

Störung der Myokardfunktion bei viraler Herzmuskelerkrankung

Klinische und tierexperimentelle
Untersuchungen

Bernd Ludwig

Duss
München
1985



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554813_0001

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München

Klinikum Großhadern

Direktor: Prof. Dr. G. Riecker

Störung der Myokardfunktion
bei viraler Herzmuskelerkrankung

Klinische und tierexperimentelle Untersuchungen

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Bernd Ludwig

aus

Heidelberg

1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

I. Berichterstatter: Prof. Dr. med. H.-D. Bolte
II. Berichterstatter: Prof. Dr. med. G. Riecker
Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 14. Febr. 1985

In Dankbarkeit gewidmet meinen Eltern

Paul und Sigrid Ludwig.

1. Einleitung und Fragestellung
2. Methoden
 - 2.1. Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis zirkulierender humoraler Antikörper im Serum von Patienten gegen Myokardgewebe
 - 2.2. Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis viralen Antigens in menschlichem Myokardgewebe (Myokardbiopsie)
 - 2.3. Tierexperimentelle Untersuchungen
 - 2.3.1. Virusmyokarditis im Tiermodell
 - 2.3.2. Immunfluoreszenzoptisches Verfahren zum Nachweis viralen Antigens im Mäusemyokard
 - 2.3.3. Lichtmikroskopische Untersuchung virusinfizierten Myokardgewebes
 - 2.3.4. Isometrische Kontraktion bei experimenteller Virusmyokarditis
 - 2.4. Statistische Auswertung
- 3.1. Virale Herzmuskelerkrankung - klinische Daten
 - 3.1.1. Allgemeine Kenntnisse
 - 3.1.1.1. Erreger
 - 3.1.1.2. Pathologische Anatomie
 - 3.1.1.3. Ätiologie und Pathogenese
 - 3.1.2. Beobachtungen bei Patienten
 - 3.1.2.1. Definition des Patientenkollektives

3.1.2.1. Darstellung der Untersuchungsergebnisse

a) Einzelkasuistiken

b) Gesamtkollektiv

- klinische Symptomatologie
- Laborbefunde
- Elektrokardiogramm
- Röntgen-Thorax
- Herzkatheteruntersuchung
- Myokardbiopsie: histologische, elektronenmikroskopische, immunfluoreszenzoptische Untersuchungen

3.1.3. Besprechung

3.1.3.1. Erkrankungshäufigkeit, saisonale und altersabhängige Faktoren

3.1.3.2. Symptomatologie der viralen Herzmuskelerkrankung

3.1.3.3. Laborbefunde bei viraler Herzmuskelerkrankung

3.1.3.4. EKG- und Röntgenthoraxbefunde

3.1.3.5. Echokardiographie

3.1.3.6. Herzkatheteruntersuchung

3.1.3.7. Histomorphologie

3.1.4. Zusammenfassung der klinischen Untersuchungsergebnisse

3.2. Virale Herzmuskelerkrankung - tierexperimentelle Untersuchungen

3.2.1. Coxsackie-B-Virusmyokarditis bei Mäusen - allgemeine Kenntnisse

3.2.1.1. Coxsackie-B-Virus-Charakteristik

3.2.1.2. Virusreplikation, Entzündung, Abwehrmechanismen

3.2.1.3. Tierexperimentelle Virusmyokarditis - multifaktorielles Geschehen

3.2.1.4. Pathomechanismen bei Virusmyokarditis

3.2.2. Untersuchungsergebnisse

- 3.2.2.1. a) Erregerauswahl
 - b) Reoviruscharakteristik
- 3.2.2.2. Morbidität und Mortalität
- 3.2.2.3. Äußere Erkrankungszeichen, Körper- und Herzgewicht
- 3.2.2.4. Makroskopische Herzveränderungen
- 3.2.2.5. Mikroskopische Veränderungen
 - a) Immunfluoreszenz
 - b) Histologie
- 3.2.2.6. Isometrische Kontraktion bei experimenteller viraler Herzmuskelerkrankung
- 3.2.3. Besprechung
 - 3.2.3.1. Erregerauswahl, Organotropismus, Morbidität, Mortalität
 - 3.2.3.2. Herz-Körpergewicht-Relation
 - 3.2.3.3. Makroskopische und mikroskopische Herzveränderungen
 - 3.2.3.4. Isometrische Kontraktion
- 3.2.4. Zusammenfassung der tierexperimentellen Untersuchungsergebnisse
- 4. Zusammenfassende Schlußfolgerungen
- 5. Tabellen
- 6. Literaturverzeichnis
- 7. Lebenslauf

1.1 Einleitung

Erkrankungen des Herzens werden nach der WHO-Klassifikation aus dem Jahre 1980 eingeteilt in Kardiomyopathien unbekannter Ursache und in ätiologisch geklärte spezifische Herzmuskelerkrankungen^{176a} (s. Tab. 1.1).

Die Kardiomyopathien untergliedern sich in 3 Formen:

- Dilative Kardiomyopathie mit konzentrischer Links- und Rechtsherzhypertrophie,
- Hypertrophe Kardiomyopathie mit "idiopathischer" Zunahme der Muskelmasse und Verkleinerung der Ventrikellichtung, was bei der hypertrophen obstruktiven Form zu einer Einengung der linksventrikulären Ausflußbahn führt, so daß ein Druckgradient während der Systole entsteht,
- Restriktive Kardiomyopathie mit einer Behinderung der diastolischen Blutfüllung, bedingt durch eine Zunahme der Ventrikelwandsteifigkeit aufgrund von Endokardveränderungen.

Als spezifische Herzmuskelerkrankungen (ehemals sekundäre Kardiomyopathien) werden myokardiale Störungen bekannter Ätiologie bezeichnet, deren Einteilung und Einzelheiten der Tabelle 1.1 zu entnehmen sind. Hierunter ist auch die umfangreiche Gruppe der infektiösen Herzmuskelerkrankungen einzuordnen. Kardiale Funktionsstörungen bedingt durch arterielle und/oder pulmonale Hypertonie, durch Koronargefäßerkrankung, durch Klappenfehler und durch angeborene Herzvitien wurden als eigene Einheiten von der Gruppe der spezifischen Herzmuskelerkrankungen abgegrenzt.

Tabelle 1.1. Klassifikation der Herzmuskelerkrankungen nach nosologischen Gesichtspunkten.

I. KARDIOMYOPATHIEN (OHNE ÄTIOLOGISCHE HINWEISE) 1. Dilative Kardiomyopathie 2. Hypertrophische Kardiomyopathie a) obstruktiv b) nicht obstruktiv 3. Restriktive Kardiomyopathien a) endokardiale Fibroelastose b) Endomyokardfibrose	2. Hypothyreose 3. Somatotropismus 4. Carcinoid 5. Diabetes mellitus 6. Schwangerschaft, Puerperium 7. bei Phäochromocytom
II. SPEZIFISCHE HERZMUSKELERKRANKUNGEN	E. Metabolisch 1. Ischämische Herzerkrankung 2. Anämie 3. chronische u. akute Hypokaliämie 4. Glykogenspeicherkrankheiten 5. Hämochromatose 6. Xanthomatose 7. Amyloidose 8. Malnutrition 9. Urämie 10. Oxalose 11. Hypovitaminose (z.B. Thiaminmangel) 12. M. Fabry
A. Infektiös 1. Viren 2. Bakterien 3. Rickettsien 4. Protozoen 5. Metazoen B. Toxisch 1. Pharmaka (z.B. Barbiturate, Analgetika, Anaesthetika, Isoproterenol, Antracycline) 2. Vergiftungen (z.B. Kobalt, Cadmium, Arsen) 3. Alkoholische Herzerkrankung	F. Infiltrativ 1. infiltrative Metastasen maligner Tumoren 2. Hämoblastose 3. Sarkoidose
C. Allergisch-rheumatisch 1. Anaphylaxie, postvaccinal (Serumkrankheit, Nahrungsmittel- und Pollenallergien) 2. Rheumatische Karditis (Endo-, Myo-, Perikarditis) 3. Immunkardiomyopathien a) bei Kollagenosen: - Erythematodes - Dermatomyositis - Sklerodermie - Periarteriitis nodosa b) bei Dressler-Syndrom c) bei Postkardiotomiesyndrom	G. Primäre Herztumoren H. Herzerkrankungen bei neuromuskulären Störungen 1. Progressive Muskeldystrophie 2. Myotonische Dystrophie 3. Paroxysmale hypokaliämische Lähmung 4. Friedreich-Ataxie
D. Endokrin 1. Hyperthyreose	J. Physikalische Einwirkungen 1. Thoraxkontusion 2. Elektroschock 3. bei Strahlentherapie K. Senile Herzerkrankungen (senile Polyopathie)

Tabelle 1.2. Klassifikation der Herzerkrankungen nach
anatomischen Gesichtspunkten.

Endokarderkrankungen

Endokarditis

Herzklappenfehler

Myokarderkrankungen

Perikarderkrankungen

Perikarditis

Perikardkonstriktion

Perikardtamponade

Koronare Herzkrankheit

Rhythmusstörungen

(System der Erregungsrückbildung und Erregungsleitung)

(H.-D. Bolte in: G. Riecker: Klinische Kardiologie, S.115, Springer Verlag
Berlin, Heidelberg, New York 1982)

Spezifische Herzmuskelerkrankungen infektiöser Genese können durch Bakterien, Pilze, Rickettsien, Protozoen und Viren verursacht werden, wobei letztere am häufigsten als infektiöses Agens angeschuldigt werden, die epidemiologische Sicherung der vermuteten klinischen Diagnose jedoch in vielen Fällen nicht gelingt.

Als Hauptvertreter der Myokarditiserreger müssen die Enteroviren aus der pico-RNA-Familie genannt werden (Coxsackie A und B, Echoviren, Poliomyelitisviren), wenngleich auch andere Virusinfekte von einer Myokarditis begleitet sein können, vor allem bei Grippe, Masern, Röteln, infektiöser Mononukleose und Psittakose. Letztgenannte Myokarditiden verlaufen in der Regel gutartig und klingen innerhalb von Tagen oder wenigen Wochen ab (Tab. 1.3).

Das Krankheitsbild "Myoperikarditis" wurde schon vor über einem Jahrhundert beschrieben, lange bevor Virusisolation und serologische Untersuchungen eine spezifische ätiologische Diagnose erlaubten. So wurde 1854 der Begriff "idiopathische Perikarditis" geprägt ³¹, ähnliche Krankheitserscheinungen als Folge von Mumps ¹⁰- und Pleurodynie-Epidemien ¹⁶⁵ wurden im späten 19. Jahrhundert beobachtet.-

Am Anfang der wissenschaftlichen Beschäftigung mit Enteroviren standen Untersuchungen über die Pathogenese der Poliomyelitis. 1908 gelang Landsteiner und Popper die Übertragung der Erkrankung auf einen Affen ⁹². - Erst 40 Jahre später wurden die ersten Stämme von Coxsackieviren durch Inokulation von Stuhlproben zweier Kinder mit Lähmungserscheinungen an Babymäusen isoliert ³⁹. Weitere Typen einschließlich des ersten Coxsackie B-Stammes folgten kurze Zeit später ¹¹³. Die Unterscheidung von Coxsackie A und B erfolgte

Tabelle 1.3. Virusinfektionen als Ursache für Herzerkrankungen,
geordnet nach Häufigkeit von Infektionen.

Am häufigsten ist ein Verlauf als Perikarditis, weniger häufig als Myokarditis und selten als Endokarditis.

Perikarditis	Myokarditis	Endokarditis
Coxsackie B	Coxsackie B	Coxsackie B
Influenza	Influenza	
Adenovirus	Adenovirus	
ECHO	ECHO	
Coxsackie A	Coxsackie A	Coxsackie A
Mumps		
Herpes zoster	Herpes zoster	
Herpes simplex		
Poliomyelitis	Poliomyelitis	
Infektiöse	Cytomegalie	
Mononukleose	Röteln	
(EB-Virus)	Hepatitis	
	Varicellen	
	Gelbfieber	
	Choriomeningitis	
	(lymphocytär)	

anhand unterschiedlicher pathologischer Veränderungen an infizierten Säuglingsmäusen. 1945 konnten Helwig und Schmidt mit Hilfe eines Virusisolates, das von einem an Myokarditis verstorbenen Schimpansen stammte, eine interstitielle Myokarditis im Tierexperiment an Mäusen, Hamstern und Meerschweinchen verursachen⁷³. Die sich hierbei ergebenden pathologischen Veränderungen waren denen der menschlichen Erkrankungen überaus ähnlich. Pearce verwendete erfolgreich 6 verschiedene Virusstämme zur Auslösung tierexperimenteller Virusmyokarditiden, das Ausmaß der entzündlichen Veränderungen war von der viruseigenen Virulenz abhängig¹³¹. Eine Vielzahl von Veröffentlichungen über die zunehmenden Erkenntnisse über Enteroviren sind in den 50er und 60er Jahren erschienen^{14,40,117,119,120}. 1957 wurden Polioviren, Cocksackieviren und Echoviren als "Bewohner" des Gastrointestinaltraktes als Gruppe der Enteroviren zusammengefaßt^{33,112}. Aufgrund struktureller Gemeinsamkeiten wurden 1963 Enteroviren und Rhinoviren unter dem Begriff, "Piccorna-Viren" vereint¹¹⁸, der schließlich 1974 vom Internationalen Komitee zur Benennung von Viren als Familienbegriff festgesetzt wurde¹²¹.

Erstmals berichteten Fletcher und Brenan 1957 über Herzmuskel-erkrankungen i.R. von Cocksackievirus-Infektionen in Nordirland⁵⁴. Weitere Mitteilungen folgten 1958 und 1966 aus West-Australien^{55,154} sowie 1967 von Grist und Bell über 17 Fälle von Cocksackie A- und 22 Fälle von Cocksackie B-Myokarditis^{65,66}. Helin beschrieb Herzerkrankungen bei 18 Patienten während einer Cocksackie B 5 Epidemie in Finnland¹⁸, in 12 Fällen gelang der Virusnachweis im Stuhl, 16 mal konnte ein signifikanter Titeranstieg

gefunden werden. Sainani gab ebenfalls 1968 nochmals einen Überblick über die Literatur, die sich mit Coxsackie B-Virusmyokarditiden befaßte, und ergänzte die dabei erfaßten 45 Patienten mit 22 Patienten aus einem eigenen Krankengut. ¹⁴²

Burch konnte 1968 bei 50 routinemäßig durchgeführten Autopsien von Säuglingen und Kindern in 29 Fällen eine interstitielle Myokarditis nachweisen, dabei war in 12 der untersuchten Herzen Coxsackie B-Virusantigen immunfluoreszenzoptisch auffindbar. ²⁷

Ebenfalls Burch und De Pasquale gelang durch tierexperimentelle Untersuchungen an Mäusen der Nachweis entzündlicher Veränderungen durch Coxsackie Virus B4 am Endokard und an Herzklappen. ²⁴

Smith hob 1966 ^{154,155} und nochmals 1970 ¹⁵⁶ die vorherrschende Rolle von Coxsackie B-Infektionen bei Erwachsenen mit akuter entzündlicher Herzmuskelerkrankung hervor. In verschiedenen Fallbeispielen schildert er klinische Symptomatik, laborchemische und elektrokardiographische Veränderungen und kommt zu dem Schluß, daß neben dem direkten zytopathogenen Effekt der Viren ein durch die Virusinfektion eingeleiteter, autoimmunologischer Vorgang für den klinischen Verlauf mit von Bedeutung sei.

Sanders ¹⁴⁵ unterteilte den Krankheitsablauf einer Virusmyokarditis in eine akute "direkt zytopathogene" Phase mit intrazellulärer Virusvermehrung, Veränderungen im Zellstoffwechsel und der Energiebereitstellung sowie gegebenenfalls daraus resultierender Zytolyse, und in eine "indirekte" postinfektiöse Phase mit "allergischer" bzw. "immunologischer" Ätiologie. ¹⁴⁴

Als Indizien hierfür werden das zeitliche Intervall zwischen der initialen Infektion und dem Beginn kardialer Beschwerden, ein

Hypersensitivitätszustand und das gehäufte Auftreten von Myokarditiden bei Familienmitgliedern mit somit ähnlichem Immunsystem, angeführt. Schließlich wird die Möglichkeit einer Veränderung antigener Zelloberflächenstrukturen durch Viren und eine dadurch bedingte Induktion eines autoimmunologischen Destruktionsprozesses diskutiert.

Die virale Herzmuskelerkrankung ist pathologisch anatomisch gekennzeichnet durch entzündliche Infiltrate von Lymphozyten, Plasmazellen, Monozyten und in Frühstadien neutrophile Granulozyten, die die Hinterwände der Vorhöfe, die Septen und die Herzspitze bevorzugen.

Charakteristisch sind ferner Faser- und Zellkernschwellung, Einzelfasernekrosen, tierexperimentell wurden Veränderungen der Mitochondrien und Erweiterung der Zisternen des sarkoplasmatischen Retikulums nachgewiesen. Inwieweit diese Veränderungen für eine diffuse interstitielle Fibrose bzw. fleckige Narbenbildung verantwortlich sind, ist retrospektiv im Einzelfall oft nicht zu klären.

In diesem Zusammenhang wurden Ähnlichkeiten zwischen chronischer Myokarditis und myokardialen Erkrankungen ungeklärten Ätiologie (dilative Kardiomyopathie) von Silber und Woodward hervorgehoben¹⁵³.

Ätiologisch können die in Tabelle 1.3. aufgeführten Viren zu einer entzündlichen Erkrankung des Herzens führen, wobei es in erster Linie zu einer Entzündungsreaktion am Perikard in Form einer Perikarditis kommt. In zweiter Linie kann das Myokard alleine oder zusätzlich befallen sein (Perimyokarditis). Bislang nicht gesichert, aber wahrscheinlich ist, daß auch in seltenen Fällen eine Endokarditis bei

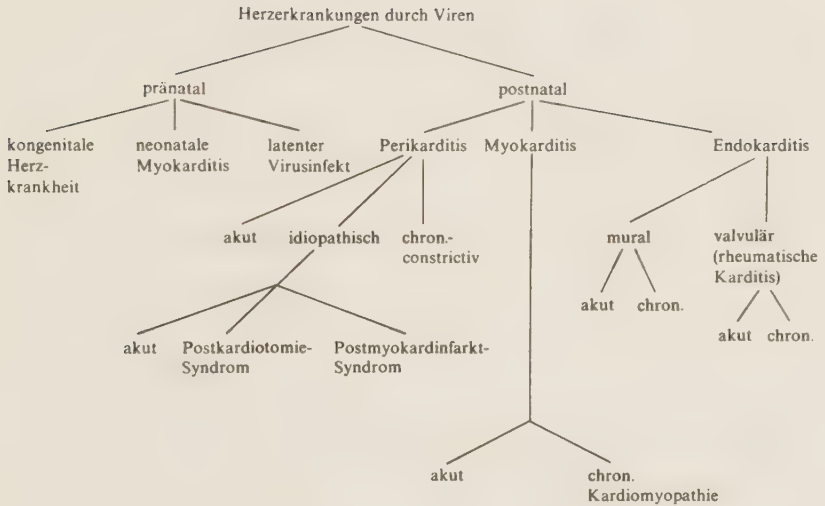


Abb. 1.1.

Mögliche Bedeutung von Viren für die Entstehung von Herzerkrankungen.

(H.-D. Bolte in: G. Riecker: Klinische Kardiologie, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1982)

Tabelle 1.4. Immunologische Untersuchungsmethoden zur Diagnostik
bei Virusmyokarditiden.

Virus	Antikörpernachweis (Serologie)	Virusisolation aus:
Coxsackie A + B	NT, KBR	Faeces, Rachenab- strich u. a.
Influenza	HHT, KBR	Rachenabstrich
Adenovirus	KBR, NT	Faeces, Rachenab- strich u. a.
ECHO	NT, KBR	Faeces, Rachenab- strich u. a.
Polioomyelitis	NT, KBR	Faeces, Rachenab- strich u. a.
Varicella	KBR, NT	Bläscheninhalt
Herpes	NT, KBR	Bläscheninhalt
Mumps	KBR, HHT, NT	Rachenabstrich, Urin
E.B.-Virus	Paul-Bunnell-Test	

NT = Neutralisationstest,

KBR = Komplementbindungsreaktion,

HHT = Hämagglutinationshemmungstest.

(H.-D. Bolte in: G. Riecker: Klinische Kardiologie, S.141,
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1982)

Coxsackievirus-Infektionen auftritt. Interessant ist die von Burch und Mitarbeitern wiederholt aufgestellte Vermutung, daß Viren in vielfältiger Weise die Entstehung anderer Kardiomyopathien begünstigen können. Das Prinzip dieses Konzeptes wird deutlich aus der Abbildung 1.1.

Die Erkennung einer virusbedingten Herzerkrankung beim Menschen basiert gewöhnlich auf einer klinischen Diagnose. Bei einigen Virusinfektionen sind die klinischen Zeichen so typisch, daß die Diagnose einer virusbedingten Nasopharyngitis, Tonsillitis, Sinusitis oder einer Mumpsinfektion gestellt werden kann.

Bei Unsicherheit der Diagnose bedeutet der kulturelle Nachweis eines bakteriellen Keims keinesfalls den Ausschluß einer Virusinfektion. In einigen wenigen Fällen steht die kardiale Symptomatologie bereits bei Beginn der Erkrankung im Vordergrund. Meist läßt sich aber eine Latenzperiode von einigen Tagen zwischen Abklingen der allgemeinen Zeichen des Virusinfektes und Beginn der Symptome der Herzerkrankung eruieren. Insbesondere Coxsackieinfektionen zeigen ein Intervall von 8-14 Tagen zwischen dem Beginn der Karditis und einem vorausgegangenen grippalen Infekt (Rhinitis, Myalgia, Fieber, Tracheobronchitis). Wesentliche diagnostische Hinweise geben neben dem klinischen Erscheinungsbild serologische Untersuchungen mit Hilfe des Neutralisationstestes, der Komplementbindungsreaktion und des Hämagglutinationshemmtest and andererseits der direkte Nachweis des Erregers (Virusisolation aus Faeces, Rachenabstrich und gegebenenfalls Bläscheninhalt). Für eine frische Virusinfektion beweisend sind nur der Nachweis von IgM-Antikörpern im Elisa-Test oder signifikante Virustiterverläufe, die durch mehrfache Bestimmungen im Abstand von mindestens 2 Wochen nachgewiesen werden müssen. Die klare ätiologische Zuordnung zu einer aufgetretenen Herzmuskelerkrankung ist jedoch zweifelsfrei nur durch den Erregernachweis

Allgemeine Symptome

Hinweise für Infektionen
der oberen Luftwege
Gastro-Enteritis
Myalgie
Fieber
Meningeale Zeichen
Lymphknotenvergrößerung
Exanthem
Hypotonie

Kardiale Symptome

Ruhetachykardie
Perikarditis
Zeichen der Myokardinsuffizienz
Rhythmusstörungen
EKG-Veränderungen
Myokardbiopsie "Myokarditis"
morphologisch;
Ig-Bindung;
immunhistologisch

Viruskarditis

Serologische Methoden

IgM-Antikörper (ELISA-Test)
KBR
Neutralisationstest
Humorale Myokardantikörper

Virusnachweis

Myokardbiopsie-Immunfluoreszenz
(Nachweis von Capsid)

Abb. 1.2. Diagnostik der Virusmyokarditis

Die Koinzidenz der oben angegebenen klinischen Symptomatologie und der Untersuchungsbefunde ergibt eine hohe diagnostische "Treffsicherheit".

(H.-D. Bolte, B. Ludwig, H.-P. Schultheiß in: Verh.Dtsch.Ges.Herz- u. Kreislaufforschung. 49: 131-140, 1983)

im erkrankten Organ möglich, dies könnte durch die frühe Durchführung einer endomyokardialen Myokardbiopsie gelingen.

Ebenfalls von diagnostischem Nutzen ist der Nachweis humoraler Antikörper gegen heterologes Myokard mit Hilfe eines indirekten

Immunfluoreszenztestes. Ein hoher Prozentsatz positiver Befunde läßt erkennen, daß eine virusbedingte Herzerkrankung durch immunologische Phänomene ausgezeichnet ist. Noch nicht geklärt ist, ob diesen

Untersuchungsbefunden als diagnostische Merkmale auch eine Bedeutung hinsichtlich der Pathogenese zukommt. Es ist zu vermuten, daß in Analogie zur Hepatitis Immunreaktionen ablaufen.

Neben der klinischen Symptomatologie und den laborchemischen sowie serologischen Untersuchungsbefunden weisen EKG, Röntgenaufnahme des Thorax, Echokardiographie und hämodynamische Meßparameter

(Herzkatheteruntersuchung) auf das Vorliegen einer Herzerkrankung hin und ermöglichen eine Abschätzung des Schweregrades der kardialen

Funktionsstörung. Dennoch kann die differentialdiagnostische Abklärung einer akut aufgetretenen Herzmuskelerkrankung im Einzelfall Schwierigkeiten bereiten. Es wurde deshalb versucht, durch Aufstellung von vier

diagnostischen Merkmalgruppen die Zuordnung der einzelnen Patienten zum Patientenkollektiv "Virusmyokarditis" zu erleichtern. Das nach diesen Auswahlkriterien zusammengestellte Patientengut wird hinsichtlich klinischer Symptomatologie, laborchemischer und apparativer Untersuchungsbefunde dargestellt (Abb. 1.2.),

Im zweiten Teil der Arbeit wird eine Übersicht über die in der Literatur dargestellten experimentellen Ergebnisse zu Pathogenese der viralen Herzmuskelerkrankung gegeben und ein eigenes tierexperimentelles Myokarditismodell vorgestellt. Die Entwicklung eines

immunfluoreszenzoptischen Verfahren hatte zum Ziel, den direkten Erregernachweis im befallenen Myokardgewebe zu ermöglichen. Durch Bestimmung isometrischer Kontraktionsparameter sollte die Frage geklärt werden, ob eine Virusinfektion des Herzens schon in der frühen Entzündungsphase zu einer meßbaren Reduktion der myokardialen Kontraktionskraft führt.

1.2. Ziele der vorgelegten Untersuchung

1. Darstellung der klinischen Symptomatologie, laborchemischer und apparativer Untersuchungsbefunde eines Patientenkollektives mit viraler Herzerkrankung unter Berücksichtigung von immunologischen Phänomenen (indirekter Immunfluoreszenztest).
2. Untersuchungen zum direkten Erregernachweises im Myokardgewebe (Myokardbiopsie).
3. Untersuchungen bei tierexperimenteller Virus-Karditis (Reo-Viren).
4. Messung myokardialer Kontraktionsparameter bei akuter Myokarditis (Reo-Viren) im Tierexperiment.

2. Methoden

2.1. Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis zirkulierender humoraler Antikörper gegen Myokardgewebe

2.1.1. Prinzip

Serum von Patienten mit einer viralen Herzmuskelerkrankung wird auf das Vorkommen humoraler Antikörper gegen Herzmuskelgewebe untersucht. Diese (im Blut zirkulierenden Antikörper) können mit Hilfe eines indirekten Immunfluoreszenztestes^{15,16,17} aufgrund ihres Bindungsvermögens an antigene Strukturen von Myokardgefrierschnitten sichtbar gemacht werden. Hierfür bedient man sich eines Doppelsandwich-Verfahrens, bei dem in einem ersten Beschichtungsschritt das auf einem Objektträger befindliche Antigenpräparat (Herzmuskelgewebe vom Meerschweinchen) mit dem zu untersuchenden Patientenserum überschichtet wird. Nach einer Einwirkungszeit von 30 Minuten, während der sich Antikörpermoleküle an das Antigenmaterial binden können, wird durch eine Phosphatpufferlösung nicht gebundenes Protein abgewaschen. Anschließend wird das Präparat mit verschiedenen fluoreszeinkmarkierten Antiimmunglobulinfraktionen (IgG, IgA, IgM) gegen humanes Immunglobulin überschichtet. Dadurch wird erreicht, daß sich fluoreszierendes Material an den im ersten Beschichtungsvorgang gebildeten Antigen (Myokard)-Antikörper (Patientenserum)-Komplex bindet, und dieser Gesamtkomplex im ultravioletten Licht eines Fluoreszenzmikroskopes sichtbar wird.

Neben der grundsätzlichen Unterscheidung in positive und negative Reaktionen, lassen sich verschiedene "Fluoreszenzmuster" differen-

zieren, je nach Lokalisation der gebundenen Antikörper. So befinden sich Antikörper gegen sarkomale Strukturen (s-Typ), gegen Kernmaterial (nukleär, n-Typ), gegen Myofibrillen (myofibrillär, m-Typ) und auch zwischen den Myofibrillen lokalisierte Antikörperbindungen (intermyofibrillär, i-Typ). Darüber hinaus bietet der unterschiedlich positive Ausfall des Immunfluoreszenzmusters bei Verwendung dreier verschiedener Antiimmunglobulinfraktionen (Anti IgG, Anti IGA, Anti IgM) eine weitere Differenzierungsmöglichkeit.

2.1.2. Materialien

Das durch venöse Punktion (10ml Blut) und nach Gerinnung durchgeführter Zentrifugation (3000 Upm, 20min, Labofuge) gewonnene Serum, wird mit einer Pipette auf mehrere Eppendorfgefäße verteilt und kann bis zur Testdurchführung entweder für wenige Tage in einem Kühlschrank bei +4°C aufbewahrt oder für längere Zeit tiefgefroren bei -30°C gelagert werden. Als Antigen dienen Gefrierschnitte von heterologem Myokardgewebe ausgewachsener Meerschweinchen. Nach Tötung der Tiere durch Genickschlag wird das Herz rasch entnommen und zum Ausbluten in eine eisgekühlte 0,9%-Kochsalzlösung gegeben. Sofort anschließend wird ein aus dem linken Ventrikel herausgeschnittener Block von ca. 5x5mm Größe mit etwas Einbettmasse (Tissue-Tek II-compound) auf einen Schneidestempel geklebt und zum Einfrieren 5-10sec in ein mit 2-Methylbutan gefülltes und von flüssigem Stickstoff (T-195°C) umgebenes Gefäß getaucht. Der Stempel mit dem tiefgefrorenen Herzmuskelstück kann dann bis zum Schneidevorgang in einer Plastiktüte luftdicht

verpackt bei -30°C aufbewahrt werden.

Zur Herstellung der 5-mikrondicken Herzmuskelschnitte wird ein Kryostat der Firma Dittes, Heidelberg, Typ Dittes-Suspiva verwendet. Die Schnitte können durch direktes Abtupfen vom Kryostat-messer auf die gereinigten Objektträger gebracht werden und müssen vor Verwendung mindestens 30min bei Raumtemperatur an der Luft trocknen. Für die nach Beschichtungsschritten notwendigen Waschvorgänge wurde eine Phosphatpufferlösung (PBS) verwendet, die man aus 2 l Aqua bidest mit 17,54g NaCl und 8ml Phosphat-Puffer-Konzentrat der Firma Behring herstellt. Der zweite Beschichtungsschritt wurde mit Antiimmunglobulinfraktionen vom Kaninchen durchgeführt. Am besten geeignet erschienen Fluoreszeininisothiocyant-(FITC) markierte IgG-, IgA- und IgM-Antiimmunglobulin Präparationen der Firma Behring (Bestellnummern IgG: OTKB 04, IgA: OTKA 04, IgM: OTKC 04, F/P Qotient 2,5 + 1,5).

Nach Abschluß der Beschichtungs- und Waschvorgänge werden die Präparate mit einem Tropfen Glycerinphosphatpuffer (1 Teil Glycerin, 2 Teile PBS) und einem Deckglas der Stärke 0,13mm eingedeckt. Die Auswertung der fertigen Präparate wurde mit einem Leitz-Fluoreszenzmikroskop (Leitz Orthoplan, Lampe: Xenon Hochdruck, osram XBO 75 W/2, Filter: Filtersatz K, Leitz, Objektiv 40X, Okular 10X) durchgeführt und mit einem Leitz-Fotoapparat (Leitz Orthomat W, Film: Kodak 200, Taglicht) fotografiert.

2.1.3. Durchführung des indirekten Immunfluoreszenztestes

Die durch Gefrierschnittechnik gewonnenen Antigenpräparate werden

mit einer 1:10 verdünnten Serumprobe unter Verwendung einer 50ul Eppendorfpipette vorsichtig beschichtet und dann 30min in eine feuchte Kammer auf einen Objektträgerhalter gestellt. Anschließend erfolgt ein 3x15min langer Waschvorgang mit PBS in einer Küvette, die zur Verbesserung dieses Reinigungsvorganges auf einen Rüttler (Braun, Melsungen) geklemmt wird. Nachdem die Phosphatpufferlösung durch Senkrechtthalten der Präparate abgelaufen ist, können diese mit je einer Antiimmunglobulinfraktion erneut beschichtet werden. Beschichtungsart und -dauer sowie anschließender Waschvorgang erfolgen wie im oben beschriebenen ersten Teilabschnitt.

Sobald die Präparate trocken sind, werden diese mit einem Tropfen Glycerinphosphatpuffer überschichtet und mit einem Objektgläschen eingedeckt. Bei Aufbewahrung in einem Kühlschrank oder Kühlraum in völliger Dunkelheit bleiben sie für mindestens eine Woche haltbar ohne daß ein nachweisbarer Fluoreszenzrückgang eintritt. Die Betrachtung und Auswertung der Schnitte erfolgt mit einem Auflichtfluoreszenzmikroskop bei 400-facher Vergrößerung.

2.1.4. Auswertung und Kontrolle

Bei der Befundung wurden Abkürzungen verwendet, wobei s für sarkolemmal, n für nukleär, i für intermyofibrillär und m für myofibrillär steht. Die Abstufung der Intensität des Immunfluoreszenzmusters wird folgendermaßen getroffen: ein + -Zeichen deutlich positiver Befund; zwei ++ -Zeichen deutlicher und schon recht heller Befund; drei +++ -Zeichen ungewöhnlich hell und deutlich (seltene Extrembefunde). Durch Einklammern der gewählten Symbole z.B. (s+) wurden entweder sehr lichtschwache oder nicht auf dem

ganzen Myokardschnitt auftretende Befunde beurteilt, somit als fraglich positiv eingestuft und in der Regel durch Testwiederholung überprüft.

Man bedient sich verschiedener Kontrollfärbungen, um das Auftreten falsch positiver und falsch negativer Testergebnisse möglichst gering zu halten. In Vorversuchen wurde die Inzidenz positiver Ergebnisse an einem klinisch gesunden Kontrollkollektiv getestet¹⁵ (n = 30, 3% + Befunde). Bei jedem Test wird ein positives und ein negatives Kontrollserum mit untersucht, wodurch die Reproduzierbarkeit der Methode überprüft wird. Eine weitere Kontrolle stellt die Beschichtung des Meerschweinchenantigens nur mit dem Antiimmunglobulin (zweiter Schritt des Fluoreszenztestes) dar. Hierbei würden sich unspezifische Bindungen der farbstofftragenden Antikörper an das Antigen erkennen lassen (FITC-Antikörper gegen Humanimmunglobulin). Diese Kontrollseren zeigten jedoch niemals positive Fluoreszenzmuster. Schließlich werden fraglich positive Immunfluoreszenzbefunde durch Wiederholung des Testes überprüft.

2.2. Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis viralen Antigens in menschlichem Myokardgewebe (Myokardbiopsie)

Das Prinzip und die Durchführung dieses Immunfluoreszenztestes wird unter dem Punkt 2.3.2 , Immunfluoreszenzoptisches Verfahren zum Nachweis viralen Antigens im Herzmuskelgewebe, beschrieben. Untersucht wurden Gefrierschnitte menschlicher Myokardbiopsien, die mittels transvenöser Kathetertechnik gewonnen wurden. Der erste Beschichtungsschritt wurde mit antiviralen Antikörperprä-

parationen der Firma Dynatech durchgeführt (Fa. Dynatech, Justinus-Kerner-Str. 32, 7306 Denkendorf). Zur Verwendung kamen Anti-Reovirus-Group-Antikörper vom Meerschweinchen (Bestell-Nr. 30-173), Anti-Coxsackie A9 (Bestell-Nr. 30-802), ein Gemisch von Anti-Coxsackie B1-, B2-, B3-, B4-, B5 (Bestell-Nrn. 30-803, 30-804, 30-805, 30-806, 30-807) und ein Gemisch von Anti-Echo-6, -9, -11, -30 (Bestell-Nrn. 30-826, 30-829, 30-896). Die Antikörper gegen Coxsackie- und Echo-Viren stammen von immunisierten Kaninchen. Der zweite Beschichtungsvorgang wurde mit FITC-konjugierten Antiimmunglobulin-Antikörpern gegen Meerschweinchenimmunglobulin (Anti-Reovirus-Group-Antikörper) und gegen Kaninchenimmunglobulin durchgeführt (Anti-Meerschweinchenimmunglobulin Fa. Behring, Bestell-Nr. OTKK04, Anti-Kaninchenimmunglobulin).

2.3. Tierexperimentelle Untersuchungen

2.3.1. Virusmyokarditis im Tiermodell

a) Materialien

Der Versuch der Erzeugung einer viralen Herzmuskelerkrankung wurde an Säuglingsmäusen (Albinomäuse) aus der Tierzucht des Instituts für wissenschaftliche Tierforschung (IWV Gelting) durchgeführt. Die Muttertiere mit ihren neugeborenen Würfen (10-15 Jungtiere) wurden in Makrolon Käfigen gehalten und erhielten Standard-Diät Futter der Firma Altromin und Leitungswasser. Die Säuglingsmäuse waren bei Versuchsbeginn zwischen 8 und 36 Stunden alt. Zur intraperitonealen Verimpfung kamen Suspensionen von Reovirus 1 Typ Lang ($10^{7,5}$ PFU/100ul) die uns freundlicherweise von Herrn

Prof. Dr. Eggers, dem Direktor des Institutes für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Köln zur Verfügung gestellt wurden. Diese Virussuspensionen wurden in kleinen Mengen (200ul) bei -30°C in Eppendorfhütchen gelagert und jeweils erst kurz vor Gebrauch auf 37°C erwärmt. Für die Durchführung der intra-peritonealen Inokulation wurde eine Hamiltonspritze (50ul) verwendet.

b) Intraperitoneale Verimpfung

Die Tiere wurden von einer Hilfsperson vorsichtig am Körper zwischen den Fingern und an den Beinen gehalten und etwas gestreckt. Man sticht nun mit der Nadel rechts neben und gering unterhalb des Nabels ungefähr 3-4mm tief schräg ein und spritzt 20ul der Virussuspension (10^7 PFU Dosis) in die Bauchhöhle. Vor Zurückziehen der Nadel werden die Beine der Tiere losgelassen, da sonst durch die Spannung der Bauchdecke und den dadurch bedingten hohen intraperitonealen Druck Virussuspension aus dem Stichkanal austreten würde. Danach werden die Tiere zu den sie ernährenden Muttertieren in die Käfige zurückgelegt.

c) Kontrolle der Tiere und Untersuchungszeitpunkte

Die Jungtiere verblieben bis zu ihrer Tötung bei den Muttertieren. Sie wurden mehrmals täglich auf äußerlich auffällige Erscheinungen und Verhaltensänderungen beobachtet. Die Tötung der Tiere erfolgte am 1.-14. und am 16., 18. und 20. Tag nach intraperitonealer Virusinokulation. Nach Tötung der Tiere durch Dekapitation mit einer Schere wurden die Tierkörper mit Nadeln auf einer Styroporunterlage befestigt, der Brustkorb eröffnet, nach rascher makros-

kopischer Inspektion die Herzen entnommen und zum Ausbluten in gekühlte Kochsalzlösung gegeben. Dann werden die ganzen Herzen auf die Schneidestempel gefroren. Das weitere Vorgehen zur Gewinnung von Gefrierschnitten für histologische und immunfluoreszenzoptische Untersuchungen s. unter 2.1.2. Der Nachweis von Virusantigenen in Myokardzellen der Babymauser Herzen wurde mit Hilfe eines im nächsten Abschnitt erläuterten immunfluoreszenzoptischen Verfahrens erbracht.

2.3.2. Immunfluoreszenzoptisches Verfahren zum Nachweis viralen Antigens in Herzmuskelzellen

a) Prinzip

Die Methode der Immunfluoreszenz erlaubt nicht nur die Untersuchung von Seren auf das Vorliegen von Antikörpern gegen verschiedenste Antigenpräparate (z.B. Meerschweinchenmyokard, s. 2.1. wie Leber, Niere u.s.w. auch von unterschiedlichen Tierarten), sondern ermöglicht umgekehrt auch den Nachweis antigener Strukturen in einem Gewebeschnitt bei Verwendung bekannter Antikörperpräparationen. So eröffnet diese Methode gerade im mikrobiologischen Bereich vielfältige Anwendungsmöglichkeiten und ein breites Spektrum von Nachweisverfahren.⁹⁹ Durch die Verwendung direkter und indirekter Immunfluoreszenzteste können Gewebepreparate auf das Vorliegen von Virusantigen untersucht werden. In diesem Fall wurde Reovirusantigen in Myokardzellen von Säuglingsmäusen mit Hilfe eines zweizeitigen (Doppelsandwich-Methode) Immunfluoreszenzverfahrens nachgewiesen, wobei eine relativ einfache und klinisch praktikable Methode aus käuflich verfügbaren Antikörper-

NACHWEIS VON INTRAZELLULÄREM VIRALEM ANTIGEN — Indirekter Immunfluoreszenztest —

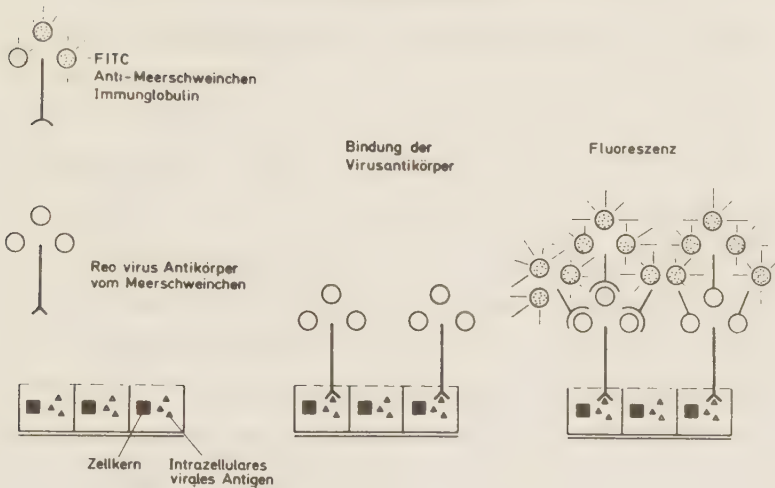


Abb. 2.1.

1. Reovirusantikörper vom Meerschweinchen binden sich während des 1. Beschichtungsvorganges an intrazelluläres virales Antigen.
2. Der 2. Beschichtungsschritt ergibt eine Bindung fluoreszenzmarkierter Antiimmunglobulinantikörper vom Kanichen an die Virusantikörper.

Der Komplex Virusantigen-Virusantikörper-fluoreszenzmarkiertes-Antiimmunglobulin kann immunfluoreszenzoptisch (Auflichtverfahren) sichtbar gemacht werden.

präparationen zusammengestellt wurde. Grundsätzlich läßt sich diese Methode auch an anderen Antigenpräparaten (z.B. Humane Myokardbiopsie) und mit verschiedensten Antikörpergruppen (Coxsackieviren, Echoviren u.s.w.) durchführen, und kann somit als ein klinisch anwendbares Screeningverfahren bei der Suche nach Virusbefall von Geweben (z.B. Myokard) in die Methodik aufgenommen werden (s. 2.2.).

Bei dem ersten Beschichtungsschritt dieses immunfluoreszenzoptischen Virusantigen-Nachweisverfahrens werden Antikörperpräparationen einer Tierart (z.B. Meerschweinchen) verwendet, die mit den gesuchten Virusarten immunisiert wurden. Im zweiten Schritt weist man dann die an das gewebsgebundene Virusantigen fixierten Virusantikörper durch fluoreszeinmarkierte Antiimmunglobuline nach, die sich gegen die Immunglobuline der immunisierten Tierart richten (Anti-Meerschweinchenimmunglobulin-Antikörper vom Kaninchen). Die Vorteile der indirekten Fluoreszenztechnik sind zum einen die höhere Empfindlichkeit gegenüber der direkten Methode (direkt heißt ein Beschichtungsschritt, der Virusantikörper ist selbst fluoreszeinmarkiert), da Antigene immer mehrere Antikörper binden und sich bei einem Zwei-Schichtverfahren die Reaktionsstellen summieren und zu stärkerer Fluoreszenz führen.¹¹¹

Weitere Vorteile ergeben sich aus der Tatsache, daß nicht jedes Virusantigen mit dem Farbstoff konjugiert bzw. hergestellt werden muß, sondern ein einziges Anti- γ -Globulin-Konjugat ausreicht. Auch lassen sich Antiseren mit niedrigen spezifischen Antikörpertitern in Verbindung mit guten Anti-Globulinseren noch mit eindeutigen Ergebnissen verwenden. Als Nachteile müssen

der längere Zeitaufwand und die größere Gefahr unspezifischer Reaktionen genannt werden, die einen Mehraufwand an Kontrollen notwendig macht.

b) Materialien

Untersucht wurden 5-micron dicke Myokard-Gefrierschnitte virus-infizierter Säuglingsmäuse und unbehandelter gesunder Mäuse. Zur Fixation des Virusantigens und zum Aufschluß der Zellen wurde Aceton bei Raumtemperatur verwendet. Dieses Vorgehen verhindert ein mögliches Herauslösen des Virusantigens bei den Waschvorgängen und beseitigt die Infektiosität der Präparate ohne antigene Strukturen zu zerstören.

c) Ablauf und Durchführung

Die Durchführung dieser Nachweismethode unterscheidet sich von dem in 2.1.3 geschilderten Immunfluoreszenztestes in den zur Verwendung kommenden Antikörperpräparationen und der Notwendigkeit einer 15minütigen Fixation der Gewebe vor Testbeginn in Aceton. Hierbei stellt man die Objektträger 15 Minuten in eine mit Aceton gefüllte Küvette und wäscht die Präparate mit einem Phosphatpuffer, bevor man mit der Durchführung des Immunfluoreszenztestes beginnt.

Für den ersten Beschichtungsschritt wurden Reovirus-Group Antikörperpräparationen der Firma Dynatech verwendet (Nr. 30-173, 1:20 verdünnt). Diese gegen virales Antigen gerichteten Antikörper stammen von mit Reoviren immunisierten Meerschweinchen. Der Nachweis der an das zellgebundene Antigen haftenden

Antikörper wurde mit Fluoreszein-konjugiertem Anti-Meerschweinchenimmunglobulin erbracht (zweiter Beschichtungsschritt) (Behring OTKK 04, 1:20 verdünnt).

Die Dauer der einzelnen Arbeitsschritte sowie die für Waschvorgänge und Eindeckung benötigten Materialien sind unter 2.1. beschrieben. Die Auswertung der Präparate erfolgte wiederum mit einem Leitz Auflichtfluoreszenzmikroskop.

2.3.3. Lichtmikroskopische Untersuchung von virusinfiziertem Myokardgewebe mittels HE-Färbung

Myokard virusinfizierter Babymäuse wurde ebenfalls lichtmikroskopisch untersucht. Hierbei stellte sich die Frage nach den durch Viren verursachten histologischen Veränderungen und der durch Abwehrvorgänge ausgelöste Entzündungsreaktion. Zur Untersuchung gelangten 10-micron dicke Herzmuskelgefrierschnitte virusinfizierter (siehe 2.2.1.) und gesunder Babymäuse. Die luftgetrockneten Präparate wurden 15 Minuten in eine Mayers Hämalaun-Lösung (Merck 9249, filtriert) gebracht, anschließend 15 Minuten in fließendem Leitungswasser gewaschen. Darauf folgte ein zweiter 5-minütiger Färbeschritt in einer 0,1%igen, wässrigen Eosinlösung (Eosin und einige Tropfen Essigsäure), ein weiterer Waschvorgang in destilliertem Wasser und eine Dyhydrierung in einer aufsteigenden Alkoholserie (70%, 80%, absolut) und zuletzt Xylol. Die Schnitte wurden mit einem Deckgläschen der Dicke (0,13mm) eingedeckt und lichtmikroskopisch mit einem Leitzmikroskop (Orthoplan) begutachtet. Die Photographien erfolgten mit einem Leitz, Orthoplan Belichtungsautomat, Film: Agfachrom 50L, Kunstlicht.

2.3.4. Kontraktionsgrößen bei Virusmyokarditis

a) Prinzip

Nach erfolgreicher Erzeugung einer Virusmyokarditis im Tierexperiment und nach Erstellung einer sicheren immunfluoreszenz-optischen Nachweismethode, stellte sich die Frage, ob der virale Befall von Myokardzellen auch eine funktionelle Änderung bewirkt. Es war nötig, eine Methode zu finden, die eine Messung der myokardialen Funktion der Babymausherzen ermöglicht. Aufgrund der Größe der Tiere waren in-vivo-Messungen nicht möglich. So entschied man sich für isometrische Kontraktionsmessungen, wie sie z.B. an Papillarmuskeln von Meerschweinchen bei pharmakologischen Studien verwendet werden. An die Stelle von Papillarmuskeln traten in unseren Versuchen Muskelstreifenpräparate, die aus dem linken Ventrikel der Babymausherzen durch vorsichtige Präparation mit einer Rasierklinge gewonnen wurden. An Muskelstreifenpräparaten gesunder und virusinfizierter Babymausherzen wurde die Kraft und die max. Kraftanstiegsgeschwindigkeit ($df/dt \text{ max.}$) am Punkt der isometrischen Maxima ohne und unter steigender Konzentration einer positiv inotropen Substanz gemessen. Der Vergleich der Dosis/Wirkungskurven versprach die unter Ruhebedingung möglicherweise verborgenen Kontraktionskrafteinbußen durch maximale inotrope Stimulation aufzudecken.

b) Versuchsanordnung

Abb. 2.2 zeigt ein Schema der Versuchsanordnung:

An dem in einer Kammer in temperaturkonstanter oxygenierter

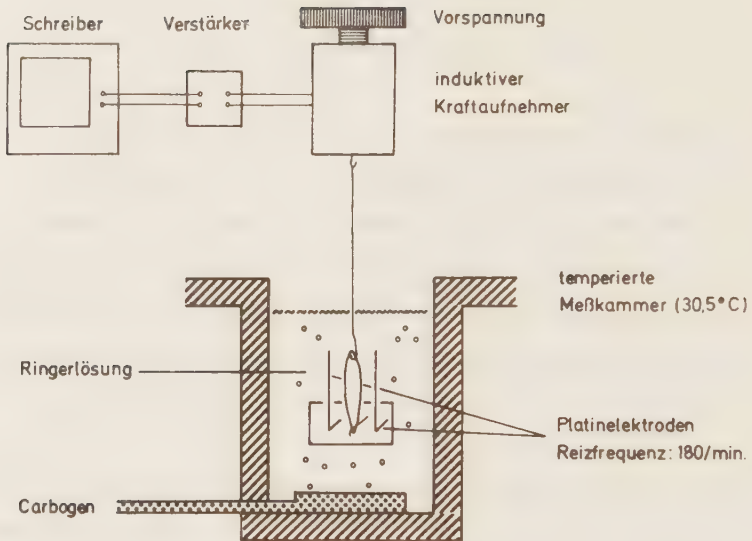


Abb. 2.2. Isometrische Kontraktion - Versuchsanordnung

Die maximale isometrische Spannungsentwicklung der Myokardstreifenpräparate wird nach geeigneter Vorspannung mit Hilfe eines induktiven Kraftaufnehmers gemessen.

Die Muskelkontraktion wird durch elektrische Feldreizung zwischen zwei Platinelektroden induziert (Reizfrequenz 180/min; Reizspannung anderthalbfache Reizschwellenstärke 10-20 V; Reizdauer 2,5 msec.).

Ringerlösung aufgehängten Herzmuskelstreifen werden mit Hilfe eines induktiven Kraftmessers (Modell FU 10 DC 500mV/g) isometrische Kontraktionskräfte gemessen, die elektrischen Impulse über einen Verstärker (BB Elektronik München) einem Gould 4-fach Schreiber zuleitet und dort aufgezeichnet. Es besteht die Möglichkeit, jeweils vier Präparate gleichzeitig unter isometrischen Bedingungen einzuspannen und je zwei davon simultan aufzuzeichnen.

c) Präparate

Aus dekapitierten Babymäusen (Alter 3-5 Tage) werden die Herzen durch Thorakotomie rasch entnommen und in eine mit oxygenierter Ringerlösung gefüllte Präparierkammer verbracht. Dort werden mit Hilfe einer scharfen Rasierklinge die Vorhöfe entfernt, linker und rechter Ventrikel voneinander getrennt und aus dem linken Ventrikel in Richtung von Herzbasis zu Herzspitze ein Herzmuskelstreifenpräparat von max. 1mm Dicke herausgeschnitten. Ein Ende des Streifens wird auf einen Haken gespießt, mit dem das Präparat anschließend in der Versuchskammer fixiert werden kann, das andere Ende wird auf die zurecht gebogene Nadel (6/0 Faden, nicht resorbierendes chirurgisches Nahtmaterial) gesteckt. Mit einer Pinzette wird nun der Fixierhaken gegriffen, das gesamte Präparat zur Versuchskammer getragen und in vertikaler Anordnung eingespannt.

d) Meßvorrichtung, Verstärker, Dokumentation

Die Messung der isometrischen Kraftentwicklung erfolgt mit einem induktiven Kraftaufnehmer der Firma BB Elektronik München Modell FV 10 DL, wobei 1g Zugkraft 500mV Spannung bewirken. Dieses Ausgangssignal wird einem Differenzverstärker mit dem Verstärkungs-

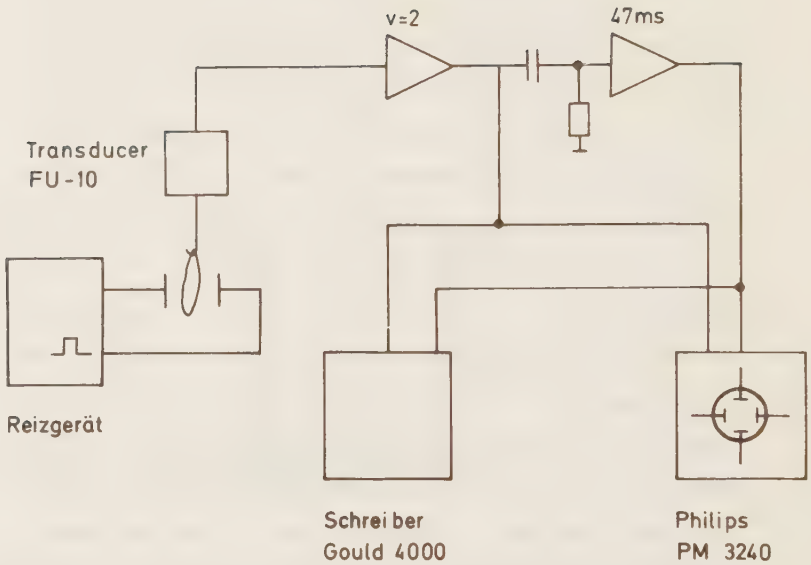


Abb. 2.3. Schematische Darstellung der Geräteanordnung

Die von dem induktiven Kraftaufnehmer kommenden elektrischen Signale werden über einen Vorverstärker und einen weiteren Verstärker mit Differenzierer einem Schreiber und einem Oszilloskop zugeleitet.

faktor 2 zugeleitet. Hier besteht ebenfalls die Möglichkeit des 0-Linienabgleiches. Über einen zweiten Ausgang erhält man mit Hilfe eines Differenzierers mit einer Zeitkonstanten von 47msec das Differential des Spannungsverlaufes und somit als muskelmechanisches Äquivalent die Kraftanstiegsgeschwindigkeit. Die beiden Signale werden zu einem Oszilloskop als Möglichkeit einer optischen Kontrolle und parallel zu einem 4-Kanalschreiber Typ 2400 der Fa. Gould weitergeleitet. Mit Hilfe eines Vorverstärkers (Medium-gain D.C. Preamplifier Modell 13461510) kann hier die Ausschlagshöhe des Schreibers variiert und ebenfalls eine 0-Linieneinstellung vorgenommen werden. Durch Wechsel des Papiervorschubes können Langzeitaufzeichnungen oder einzelne Kontraktionsvorgänge festgehalten und zur Auswertung ausgemessen werden.

(Vergleiche Abb. 2.3.)

e) Versuchskammer, Inkubationslösung, Reizung, Pharmaka

Das Präparat hängt in einer doppelwandigen Inkubationskammer in einer modifizierten Krebs-Ringerlösung. Die Kammer hat im Längsschnitt die Form eines U's und ist nach oben hin offen. In diesem mit 75ml Inkubationslösung gefüllten Innenraum kann die Haltevorrichtung mit dem Präparat gesenkt werden. Kammer, Haltevorrichtung mit Präparat und Kraftabnehmer sind an einem vibrationsfrei gelagerten Stativ abgebracht. Die Lösung, welche für Präparation, Aufbewahrung und Versuche verwendet wird, hat folgende Zusammensetzung in mmol: Na 149,3; K 4,7; Ca^{++} 1,8; Mg^{++} 0,75; Cl^- 148,8; HCO_3^- ; H_2PO_4 0,5; Glukose 5,05. Durch Lösung von Dobutamin in 0,9% NaCl werden zwei Konzentrationen hergestellt. Durch Zugabe von steigenden

Mengen mit geeichten Eppendorf-Pipetten können steigende Konzentrationen in der Inkubationslösung erreicht werden und somit für jedes einzelne Präparat eine Dosis-Wirkungskurve aufgestellt werden. Die einzelnen Messungen werden bei Kontrolle und bei Dobutaminkonzentrationen von 3×10^{-5} , 10^{-4} , 3×10^{-4} , 10^{-3} , 3×10^{-3} , 10^{-2} g/l durchgeführt. Die Auslösung der Muskelkontraktionen erfolgt mittels Feldreizung zwischen zwei Platinelektroden mit 1 1/2 facher Reizschwellenstärke. Die Rechteckimpulse stammen von einem Pulsgenerator der Fa. Teletronix (Oregon, USA) Ty 161 mit vorgeschaltetem Sägezahngenerator Typ 162. Die Reizdauer betrug 2,5 msec, die Reizfrequenz 3 Hz, die je nach Präparat zu wählende Reizspannung zwischen 10 und 20 Volt.

f) Temperatur, pO_2 , pCO_2 , pH, Na^+ , K^+

Die Konstanthaltung der Temperatur der Inkubationslösung auf $30,5^{\circ}C$ ermöglicht die Doppelwandigkeit der Versuchskammer. Durch diesen abgeschlossenen Raum zirkuliert Wärmeleitfähigkeit, die in einem Haake Wärmebad aufgeheizt wird. Die dadurch gleichmäßig warm gehaltene Kammerwand gibt ihre Wärme an den nach oben offenen Kammerinnenraum ab. Die vor jeder Kontraktionsmessung mit einem Sekundenthermometer kontrollierte Temperatur zeigt lediglich ein Abweichen von $+ 0,1^{\circ}C$ von der gewählten Versuchstemperatur und ist somit hinreichend konstant. Mit einem Blutgasanalysator, geeicht für entsprechend hohe O_2 -Partialdrucke, wird der pO_2 , pCO_2 und der pH-Wert der mit Carbogen durchblubberten Inkubationslösung gemessen. Die so ermittelten Werte liegen zwischen 550–600 mmHg pO_2 ,

25-30mmHg $p\text{CO}_2$ und 7,3-7,4 pH. Die Na^+ und K^+ -

Konzentrationen der Lösung werden mit einem Atomabsorptions-Spektralphotometer kontrolliert und stimmen mit den Sollwerten nach Einwaage gut überein.

g) Versuchsablauf

Nach Präparation werden die Herzmuskelstreifenpräparate mit dem Haltehaken unten an der Haltevorrichtung fixiert, das andere Ende wird mittels des Fadens und eines kleinen weiteren Häkchens an dem Kraftaufnehmer befestigt. Beim Einhängen muß man darauf achten, daß der Muskelstreifen nicht gedehnt wird und mit seiner vollen Länge in das elektrische Reizfeld zu hängen kommt. Dann wird das Präparat mit der Haltevorrichtung vorsichtig in die Inkubationslösung gesenkt, wobei sich der durchhängende Faden langsam streckt. Bevor ein Spannungszug an dem Kraftaufnehmer wirken kann, wird am Verstärker und am Schreiber die 0-Linie eingestellt (abgeglichen). Nun wird der Muskelstreifen durch Feldreizung zu regelmäßiger Kontraktion gebracht. Mittels einer feinhubigen Rändelschraube kann der Kraftaufnehmer langsam und in kleinen Schritten nach oben geschraubt werden. Dadurch wird die Vorspannung des Muskelstreifens gesteigert und eine Zunahme der Kontraktionskraft erreicht, was am Oszilloskop oder am Schreiber beobachtet werden kann. Man steigert die Vorspannung so lange, bis das isometrische Kontraktionsmaximum erreicht ist, erkennbar daran, daß durch weitere Vorspannungserhöhung keine zusätzliche Kraftentwicklung und v.a. keine positive Änderung des Differentials entsprechend der Kraftanstiegsgeschwindigkeit zu erreichen ist. Wenn sich ein Steady State unter diesen Kontraktionsbedingungen

eingestellt hat, werden einzelne Kontraktionsabläufe aufgezeichnet, was später die genaue Auswertung erleichtert. Bei der folgenden schrittweisen Steigerung der positiv inotropen Stimulierung mit Dobutamin wird ebenso verfahren. Die letzte Konzentrationsstufe ergibt in der Regel keinen Kontraktionszuwachs mehr. Der Versuch ist mit Erreichen der maximalen Kontraktionskraft unter einer sehr hohen Dobutaminkonzentration beendet. Die Präparate werden so von den Haken getrennt, daß der sich dazwischen kontrahierende Muskelanteil mit einer Rasierklinge herausgeschnitten und der immunfluoreszenzoptischen Untersuchung zugeführt werden kann.

Für die Verwertung eines Versuches müssen folgende Bedingungen erfüllt sein:

- 1) Die Präparate dürfen die Dicke von 1mm nicht überschreiten (max. Diffusionsstrecke für die Sauerstoffversorgung)
- 2) Die Muskelstreifen müssen möglichst vorsichtig und ohne Einwirkung einer Zugkraft präpariert werden.
- 3) Während der Messungen muß jeweils ein Steady State erreicht sein.
- 4) Ein geringes Nachlassen der Vorspannung darf nur durch Pharmaka bedingt sein und nicht durch Einreißen an den Hakenstichstellen geschehen. Letzteres kann man durch Inspektion mit einer Lupe und an dem dann kontinuierlich abfallenden Kurvenverlauf erkennen.
- 5) Virustiere und Kontrollkollektiv haben bei der Herzentnahme das gleiche Alter (3-4 Tage).

Die Versuche erfolgen immer unter gleichen Bedingungen und über einen gleichen Zeitraum.

Statistik

Die bei den isometrischen Kraftversuchen durch den Schreiber aufgezeichneten Kurven (Kraft, dF/dt max.) wurden mit einem Lineal ausgemessen und mit Hilfe eines Programms auf einem Rechner (HP 9830 A) in Absolut- und Relativ-Werte umgerechnet. Die statistische Auswertung erfolgte ebenfalls mit diesem Rechner. Dabei wurden Mittelwert ($\bar{X}$), Standardabweichung (s) und Signifikanzniveau errechnet. Hierzu wurde folgender statistische Test angewendet.

Der t-Test nach Fisher für nichtverbundene Stichproben:

Durch diesen Test wurden die isometrisch gemessene Spannungswicklung der einzelnen Myokard-Präparate eines gesunden (unbehandelten) Kontrollkollektivs mit der eines Reo-Virus 1 infizierten Viruskollektivs verglichen. Der Vergleich erfolgte zuerst zwischen den Werten ohne positiv inotrope Stimulation, und dann jeweils zwischen den Werten bei steigender Dobutaminkonzentration. (Werte der Kontrolltiere ohne Dobutamin verglichen mit den Werten der Virustiere ohne Dobutamin, Werte der Kontrolltiere bei 1. Dobutaminkonzentration verglichen mit den Werten der Viruspräparate bei 1. Konzentration usw.) In gleicher Weise wurde die maximale Spannungsanstiegsgeschwindigkeit ($dF/dt_{max.}$) ausgewertet. Als statistisch signifikant galt ein Signifikanzniveau $p < 0,05$.

Mittelwerte, Standardabweichungen, standard error of the mean (SEM) und statistische Prüfgrößen werden mit Hilfe folgender Formeln errechnet:

Mittelwert:
$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Standardabweichung:
$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Prüfgröße t des Fisher-Testes:
$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

$$SEM = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

3.1. Virale Herzerkrankung - klinische Untersuchungen

3.1.1. Allgemeine Kenntnisse

a) Erreger

Die Beteiligung des Myokards bei Virusinfekten ist häufiger als allgemein angenommen wird. So kann es v.a. bei Grippe, Poliomyelitis, Masern, Varizellen, Virushepatitis, Mumps, Röteln, infektiöser Mononukleose und Psittakose zu einer entzündlichen Herzmuskelerkrankung kommen. Diese "Begleit-Myokarditiden" verlaufen in der Regel gutartig und klingen innerhalb von Tagen bis wenigen Wochen folgenlos ab. Daneben können speziell kardiotope Viren aus der Gruppe der Picorna-Viren (Coxsackie A und B, Echoviren) nach anfänglich unspezifischer Symptomatik zu einem schweren protrahierten Krankheitsverlauf mit ausgeprägter kardialer Insuffizienz bis hin zum Tode durch Herz/Kreislaufversagen führen. Im Säuglingsalter sind Todesfälle bei Coxsackie B-Myokarditis öfters beobachtet worden (27,181).

b) Pathologische Anatomie

Histologische Untersuchungen bei tierexperimenteller Virusmyokarditis und von in vivo gewonnenen Myokardbiopsien zeigen, daß die entzündlichen Infiltrate bei Virusmyokarditis die Hinterwände der Vorhöfe, die Septen und die Herzspitze bevorzugen. Mikroskopisch beherrschen meist Rundzellinfiltrate bestehend aus Lymphozyten, Plasmazellen und Monozyten das Bild, wenngleich in frühen Stadien auch neutrophile Granulozyten auftreten können. Charakteristisch sind Myokardeinzelfasernekrosen mit Makrophagenabbau als typisches

Zeichen des floriden Entzündungsprozesses. Tierexperimentell sind Veränderungen der Mitochondrien und Erweiterungen der Zisternen des sarkoplasmatischen Retikulums nachgewiesen worden, als deren Folge eine Behinderung der elektromechanischen Kopplung vermutet wird. Ob Narbenbildungen im Myokard den Folgezustand einer abgelaufenen Virusmyokarditis darstellen, kann retrospektiv oft nicht geklärt werden. Inwieweit Endokardbeteiligung mit Herzklappendestruktion und Entwicklung einer restriktiven Kardiomyopathie bei menschlichen Karditiden eine Rolle spielt, ist ebenfalls noch unklar, konnte jedoch in tierexperimentellen Studien zweifelsfrei nachgewiesen werden^{24,25,41}.

c) Ätiologie und Pathogenese

Die einzelne Viruseinheit, das sog. Virion, besteht aus einem zentralen Kern von infektiöser Nukleinsäure (DNA oder RNA), der von einer Proteinhülle, dem Kapsid umgeben ist. Die Funktion des Kapsids besteht u.a. darin, das Eindringen der Nukleinsäure in die Wirtszelle zu erleichtern bzw. zu ermöglichen. Dabei wird die Wirtsspezifität des Virus vom Kapsid bestimmt. Als Antigen wirken dabei die Proteine des Kapsids oder seiner Untereinheiten, der sog. Kapsomeren. Die Anordnung der Kapsomeren ergibt die für die einzelnen Virusarten unterschiedliche Form des Virions. Als Nukleokapsid bezeichnet man die aus Nukleinsäure und Kapsid bestehende Einheit. Diese kann bei manchen Viren noch von einer Außenhülle (Peplos, Untereinheit Peplomeren) umgeben sein, die aus Proteinen, Kohlenhydraten und Lipoiden zusammengesetzt ist. Diese Hülle ist ebenfalls Sitz von Fermenten wie Phosphatasen, Katalasen, Lipasen, Hämagglutinin und der Neuraminidase (Myxoviren), die für die An-

heftung an die Wirtszelle wichtig ist. Virusinfektionen führen, sofern es zu einer Erkrankung des Herzens als Karditis kommt, in erster Linie zu Entzündungsreaktionen am Perikard in Form einer Perikarditis, in zweiter Linie zu einem Befall des Myokards oder von beiden (Perimyokarditis). Bislang nicht gesichert, aber wahrscheinlich ist, daß auch in seltenen Fällen eine Endokarditis bei Infektionen mit Coxsackieviren auftritt.

Die häufigsten Erreger, die zu einer Manifestation der Erkrankung am Herzen führen, sind ihrer Bedeutung nach in Tabelle 1.3. aufgeführt. Speziell kardiotrop imponieren die Viren aus der Familie der Picorna-Viren und hierbei v.a. das Coxsackie B 5 Virus. Als Pathomechanismus einer viralen Herzmuskelerkrankung wird allgemein ein zweifaches Konzept angenommen¹⁴⁵.

So scheint im frühen, akuten Stadium einer Myokarditis das Virus einen direkten "toxischen" Effekt auf die Myokardzellen auszuüben. Dieser ist bedingt durch das Eindringen des Virus in die Zelle, Umstellung des Zellstoffwechsels auf die Proteinsynthese zur Virusreplikation und Verbrauch von Energie, schließlich Zellschädigung durch Zytolyse und Virusfreisetzung. Daneben scheinen für die chronischen Verlaufsformen einer Myokarditis immunologische Phänomene eine wesentliche Rolle zu spielen. Hierbei werden folgende Möglichkeiten diskutiert:

- Die vom körpereigenen Immunsystem gebildeten Virus-Antikörper richten sich durch Kreuzantigenität bedingt gegen Zelloberflächenantigene und induzieren eine Autoimmunerkrankung (vergleiche Kon-

zept der Poststreptokokken-Endokarditis und -Nephritis).

- Viren verändern Zelloberflächen-Antigene und lassen dadurch autoimmunologische Abwehrmechanismen in Gang kommen.
- Virus und Virus-Antikörper bilden Antigen-Antikörper-Komplexe, die wiederum zu einer autoimmunologischen Abwehrreaktion führen.
- Schließlich lassen neuere Ergebnisse über verminderte T-Zell-Suppressoraktivitäten bei Patienten mit nachgewiesener Myokarditis einen zellulär vermittelten autoimmunologischen Krankheitsprozeß vermuten ⁴⁷.

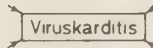
Von Burch und Mitarbeitern ist wiederholt darauf hingewiesen worden, daß Viren in vielfältiger Weise auch die Entstehung anderer Kardiomyopathien günstigen können ^{28,29}. So wird es sogar für wahrscheinlich gehalten, daß eine Virusinfektion eine Prädisposition darstellt, beispielsweise für die Erkrankung an rheumatischer Karditis im Verlauf eines rheumatischen Fiebers. Das Prinzip dieses Konzepts wird deutlich aus der Abbildung 1.1. Grundlagen hierfür sind Untersuchungen an der Herzmuskulatur von Kranken, die aus nicht kardialen Ursachen verstorben sind. Bei diesen Patienten ließ sich mit Hilfe von fluoreszenzoptischen Methoden (direkter Immunfluoreszenztest) gegen Viruspartikel gerichtete Antikörper auf der Herzmuskelmembran nachweisen.

Allgemeine Symptome

Hinweise für Infektionen
 der oberen Luftwege
 Gastro-Enteritis
 Myalgie
 Fieber
 Meningeale Zeichen
 Lymphknotenvergrößerung
 Exanthem
 Hypotonie

Kardiale Symptome

Ruhetachykardie
 Perikarditis
 Zeichen der Myokardinsuffizienz
 Rhythmusstörungen
 EKG-Veränderungen
 Myokardbiopsie. "Myokarditis"
 morphologisch,
 Ig-Bindung,
 immunhistologisch

Serologische Methoden

IgM-Antikörper (ELISA-Test)
 KBR
 Neutralisationstest
 Humorale Myokardantikörper

Virusnachweis

Myokardbiopsie-Immunfluoreszenz
 (Nachweis von Capsid)

Abb. 3.1. Diagnostik der Virusmyokarditis

Die Einteilung der diagnostischen Kriterien für eine virale Herzmuskelerkrankung erfolgte in 4 Gruppen:

- Allgemeine klinische Symptome
- serologisch-virologische Untersuchungsbefunde
- kardiale Funktionsstörungen (Herzkatheteruntersuchung)
- Myokardbiopsie, histologische und immunfluoreszenzoptische Untersuchungen

(H.-D. Bolte, B. Ludwig, H.-P. Schultheiß in: Verh.Dtsch.Ges.Herz- u. Kreislaufforschung. 49: 131-140, 1983)

3.1.2. Beobachtungen bei Patienten

3.1.2.1 Definition des Patientenkollektives

Die Erkennung einer virusbedingten Herzerkrankung beim Menschen basiert gewöhnlich auf einer klinischen Diagnose. Neben der typischen Symptomatologie tragen Untersuchungsbefunde wie die Isolation von Viren aus dem Stuhl, aus Rachenspülwasser und anderen Körperflüssigkeiten zur Diagnosestellung bei. Darüber hinaus geben allgemeine laborchemische Entzündungszeichen und technische Untersuchungen wie EKG, Röntgen-Thorax, Echokardiogramm und Herzkatheter einschließlich Myokardbiopsie Hinweise auf die Ätiologie des vorliegenden Krankheitsbildes.

Die folgenden diagnostischen Kriterien wurden als Basis für die Zuordnung der Patienten zu dem "Myokarditiskollektiv" festgelegt (Abb. 3.1.):

- 1) Akute kardiale Störung mit Zeichen des Herzversagens und begleitenden Rhythmusstörungen. Ausschluß einer koronaren Herzerkrankung oder eines Klappenfehlers mittels Koronarangiographie und Ventrikulographie, Dokumentation der myokardialen Pumpfunktionsstörung durch eine deutliche Reduktion der Auswurf-fraktion, deutliche Erhöhung des linksventrikulär endiastolischen Druckes, Abnahme der myokardialen Kontraktilität (Kraftanstiegsgeschwindigkeit) oder Dokumentation regionaler Kontraktionsstörungen.

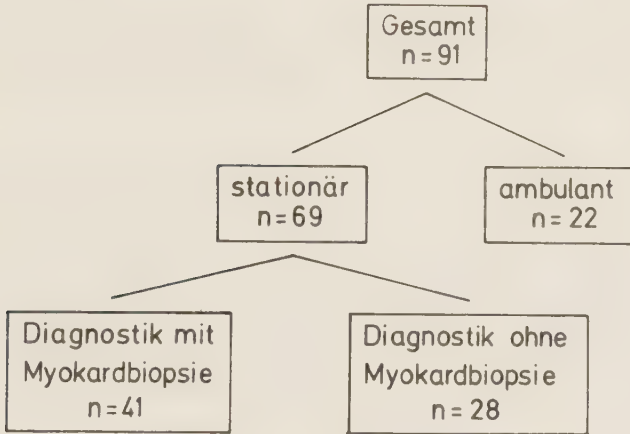
Virus-Myokarditis, klinischer Verdacht

Abb. 3.2.

Darstellung des gesamten Patientengutes mit dem klinischen Verdacht auf Virusmyokarditis.

Von 91 Patienten wurden 69 Patienten stationär aufgenommen, davon gelangten 41 Patienten zur invasiven Diagnostik einschließlich Myokardbiopsie.

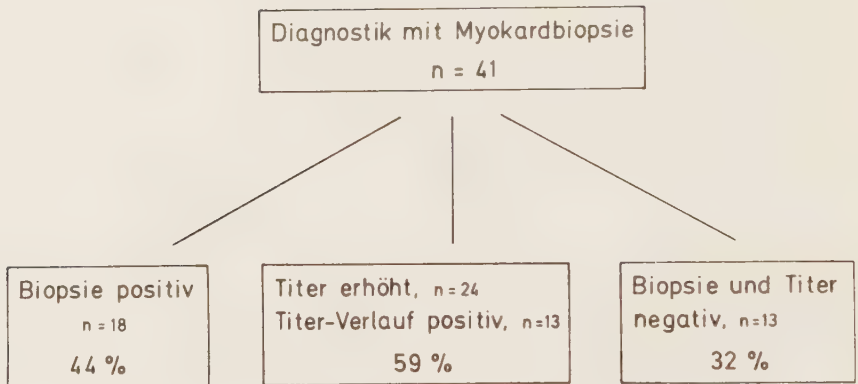
Virus - Myokarditis

Abb. 3.3.

Bei den 41 Patienten (stationär, Herzkatheteruntersuchung einschließlich Myokardbiopsie) ergaben sich in 44% ein positives Biopsieergebnis und in 59% eine signifikante Virustitererhöhung.

Bei 13 Patienten (32%) waren beide Untersuchungsparameter negativ.

- 2) Beginn der kardialen Erkrankung in zeitlichem Zusammenhang (8-14 Tage später) mit einem viralen Infekt der oberen Luftwege bzw. des Gastrointestinaltraktes.
- 3) Virologische/serologische Anzeichen einer Virusinfektion belegt durch Titeranstiege im Verlauf der Infektion.
- 4) Lichtmikroskopische Hinweise auf eine Myokarditis in histologischen Untersuchungen von Myokardbiopsien.

Unter Berücksichtigung obengenannter Kriterien wurden aus einem Krankengut von 91 ambulanten und stationären Patienten, bei denen klinisch die Diagnose "Akute Myokarditis" bzw. "Zustand nach abgelaufener Myokarditis" gestellt wurde, 28 Patienten ausgewählt. Diese Patienten waren stationär eingewiesen worden, wurden invasiv einschließlich Myokardbiopsie untersucht und erfüllten 3 der 4 genannten Bedingungen (Abb. 3.2. / Abb. 3.3.).

3.1.2.2 Darstellung der Untersuchungsergebnisse

3.1.2.2 a) Einzelkasuistiken

- Patient A.R., 43 Jahre:

Ein 43 Jahre alter Patient erlitt im Anschluß an eine zweiwöchige Grippe mit Fieber bis 39°C und gastrointestinalen Beschwerden (Durchfall, Erbrechen), eine Synkope. Er klagte über Belastungsdyspnoe, linksseitige brennende Thoraxschmerzen, Palpitationen, Schwindel und eine allgemeine körperliche Abgeschlagenheit. Wegen zunehmender Zeichen der Herzinsuffizienz wurde er in unsere Klinik eingewiesen.

Körperliche Untersuchung

Die Auskultation der Lunge ergab basal feinblasige Rasselgeräusche, einen unregelmäßigen Pulsschlag mit einer durchschnittlichen Herzfrequenz von 110/min, eine gering erhöhte Temperatur auf 38°C, sowie Atemnot bei geringer körperlicher Belastung.

Laborbefunde

Unauffällig waren: Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, weißes und rotes Blutbild, Serumelektrophorese, Antistreptolysintiter und der indirekte Immunfluoreszenztest zum nachweis humoraler Antikörper gegen Myokardgewebe. Serologische Untersuchungen ergaben innerhalb von 6 Wochen einen Anstieg des Coxsackie B₂-Titers von 1:256 auf 1:1024.

Technische Untersuchungen

Das EKG zeigte deutliche Erregungsrückbildungsstörungen mit präterminal negativen T-Wellen in den Brustwandableitungen, sowie teils salvenartige multifokale ventrikuläre Extrasystolen und einen AV-Block I. Grades.

Im Röntgen-Thorax Zeichen der pulmonalen Stauung, Herzgröße noch im Normbereich.

Echokardiographisch eine Erhöhung des ES-Abstandes auf 13mm, eine Verminderung der Durchmesserverkürzung auf 26% und eine Erhöhung des enddiastolisch linksventrikulären Durchmessers auf 65mm.

Bei der Herzkatheteruntersuchung ergab sich eine Erhöhung des linksventrikulär-enddiastolischen Volumens auf 200ml, des linksventrikulär-enddiastolischen Druckes auf 17mmHg, eine Herabsetzung der linksven-

trikulären Auswurffracfraktion auf 43%, eine Erniedrigung der Inotropieindices (dp/dt max. 700), sowie eine regionale Kontraktionsstörung mit Akinesie im Bereich der linksventrikulären Hinterwand bei insgesamt hypokinetischem Kontraktionsverhalten. Das Koronarangiogramm war unauffällig.

Myokardbiopsie: Morphologie (Olsen, London) Die histologische Untersuchung ergab eine Einzelfaserhypertrophie, eine ausgeprägte fokale Fibrose bei allgemein diffuser Zunahme des interstitiellen Bindegewebes, eine Vermehrung der Mitochondrien, und eine Vergrößerung der Zellkerne mit Einkerbungen. Entzündungszellen als Ausdruck einer frischen Myokarditis konnten nicht gefunden werden.

Zusammenfassend wurde aufgrund der anamnestischen Daten, des klinischen Verlaufes, des serologischen Titeranstieges und der Ergebnisse der technischen Untersuchung einschließlich Herzkatheter und Myokardbiopsie die Diagnose einer abgelaufenen Coxsackie B 2-Myokarditis gestellt.

- Patientin K.T., 63 Jahre:

Im Anschluß an einen fieberhaften Infekt der oberen Luftwege (Temperaturen bis 40°C) entwickelte sich eine Orthopnoe und eine Bradykardie, die zur Klinikeinweisung führte.

Klagen der Patientin: präkordialer Druck, Herzstolpern, allgemeine Leistungsminderung, Atemnot, mehrfache Nykturie.

Körperliche Untersuchung: Lippencyanose, Knöchelödeme, auskultatorisch Stauung der Lunge, langsamer arrhythmischer Pulsschlag, Blutdruck 100/60 mmHg.

Laborbefunde: Senkungsbeschleunigung auf 80/120, Erhöhung der IgG-Fraktion auf 2169mg%, Verbreiterung der -Zacke in der Serumelektrophorese auf 27%, geringgradige Erhöhung der γ -GT auf 60.

Serologisch im Verlauf von 2 Wochen Anstieg des Coxsackie B₂-Titers von 1:256 auf 1:2048 und anschließend im Verlauf von 6 Wochen Abfall auf 1:256.

EKG: Erregungsrückbildungsstörungen in allen Ableitungen, AV-Block III. Grades, Rückbildung zu AV-Block I. Grades. Unter Belastung AV-Block II. Grades.

Röntgen-Thorax: Deutliche Stauungszeichen, keine Herzvergrößerung.

Echokardiogramm: Linksventrikulär-enddiastolischer Durchmesser und ES-Abstand im Normbereich. Durchmesserverkürzung auf 25% vermindert.

Herzkatheter: Linksventrikulär-enddiastolisches Volumen, Schlagvolumen, linksventrikulär-enddiastolischer Druck im Normbereich. Auswurf fraktion (65%) und Inotropieindex (dp/dt max. 1055) gering erniedrigt. Ausgeprägte regionale Kontraktionsstörung mit Hypokinesie im Bereich der linksventrikulären Hinterwand. Koronarangiogramm unauffällig.

Myokardbiopsie: Morphologie (Olsen, London) Einzelfaserhypertrophie, Entzündungszellen.

Zusammenfassende Diagnose: Coxsackie B 2-Myokarditis noch im floriden Stadium.

- Patient G.O., 47 Jahre:

Als Folge einer Grippe mit Fieber bis 39,5°C rasch zunehmende Dyspnoe, periphere Cyanose, Kaltschweißigkeit, brennende retrosternale Schmerzen und Ruhetachykardie.

Laboruntersuchungen: Senkungsbeschleunigung auf 110/130, weißes Blutbild: Leukocytose mit 11.000 (76% Segmentkernige), geringe Transaminasenerhöhung, im indirekten Immunfluoreszenztest Nachweis humoraler nukleärer Myokardantikörper der IgM-Klasse. Coxsackie B 1-Titer im Verlauf von 1:2048 auf 1:128 abfallend.

EKG: Erregungsrückbildungsstörungen, vereinzelt ventrikuläre Extrasystolen, AV-Block I. und II. Grades.

Röntgen-Thorax: Allseits vergrößertes Herz, Zeichen der Lungenstauung.

Echokardiogramm: Linksventrikulär-enddiastolischer Durchmesser vergrößert auf 66mm, ES-Abstand 14mm, Durchmesserverkürzung auf 17% erniedrigt.

Herzkatheteruntersuchung: Erhöhtes enddiastolisches Volumen (215ml) und erhöhter enddiastolischer Druck (35mmHg). Deutlich erniedrigte Auswurfraction (34%). Inotropieindex dp/dt max. 970. Hypokinetischer Kontraktionsablauf des gesamten linken Ventrikels ohne regionale Kontraktionsstörung.

Myokardbiopsie: Morphologie (Olsen, London) Einzelfaserhypertrophie, fokale Fibrose, Entzündungszellen, vereinbar mit abgelaufener Myokarditis.

Zusammenfassende Diagnose: Abgelaufene Coxsackie B 1-Myokarditis.

- Patientin H.S., 22 Jahre

2 Wochen nach einem grippalen Infekt mit Schnupfen, Husten und Fieber bis 39°C , entwickelten sich bei der Patientin eine zunehmende Belastungsdyspnoe bis Orthopnoe, Lid- und Beinödeme, eine periphere

Cyanose, dabei brennende präkordiale Schmerzen.

Laboruntersuchungen: Senkungsbeschleunigung auf 30/50, im weißen Blutbild 55% Lymphocyten bei normaler Zellzahl (3500mm^3), γ -Zackenverbreiterung auf 28% in der Serumelektrophorese.

Serologisch-virologische Untersuchungen: Anstieg des Coxsackie B4-Titers von 1:128 auf 1:2048 innerhalb von 4 Wochen.

EKG: Sinustachykardie 130/min, vereinzelte polytope ventrikuläre Extrasystolen, Erregungsrückbildungsstörungen in Ableitung II, III, AVF, V4-V6.

Röntgen-Thorax: Herz allseits über die Norm verbreitert, vereinbar mit Perikarderguß, Zeichen der Lungenstauung.

Echokardiogramm: Kleiner linksventrikulär enddiastolischer Durchmesser 43mm, Durchmesserverkürzung 53%, ES-Abstand 2mm.

Herzkatheteruntersuchung: Enddiastolisch linksventrikuläres Volumen 52ml (!), Auswurfraction 82%, Linksventrikulär enddiastolischer Druck 16mmHg. Hypokinesie im Bereich der linksventrikulären Hinterwand. Tamponierender Perikarderguß. Unauffälliges Koronarangiogramm.

Biopsie: Morphologie (Olsen, London) Einzelfaserhypertrophie, fokale und geringe diffuse Fibrose, Fasersplitterung und Entzündungszellen. Morphologische Diagnose: Frische Myokarditis.

Zusammenfassende Diagnose: Akute Coxsackie B 4-Perimyokarditis, mit im Verlauf rezidivierenden Perikardergüssen.

3.1.2.2 b) Gesamtkollektiv

Das nach oben genannten Kriterien ausgewählte Patientenkollektiv umfaßt 9 Frauen mit einem Altersdurchschnitt von 48 Jahren

Virusmyokarditis : klinische Symptomatologie

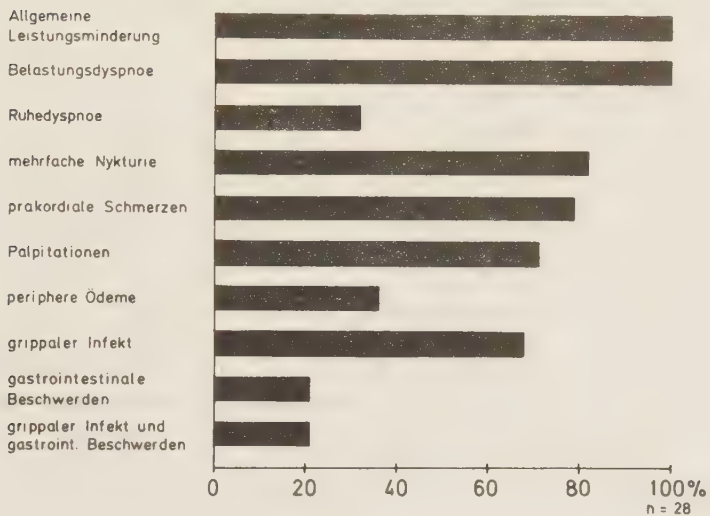


Abb. 3.4.

Darstellung der klinischen Symptomatologie (objektive Befunde und subjektive Angaben) des ausgewählten Patientengutes.

Im Vordergrund stehen Folgen der kardialen Pumpfunktionsschwäche und thorakale Schmerzen.

(22-66 Jahre) und 19 Männer mit einem Altersdurchschnitt von 42 Jahren (25-68 Jahre). Die 4 herausgegriffenen Einzelkasuistiken stellen repräsentative Beispiele des Gesamtkollektives dar.

- Klinische Symptomatologie:

Bei 19 der 28 Patienten (68%) trat die kardiale Symptomatik im zeitlichen Zusammenhang (im Durchschnitt 2 Wochen) mit einem grippalen Infekt der oberen Luftwege auf, 6 Patienten hatten zusätzlich gastrointestinale Beschwerden (Übelkeit, Erbrechen, Durchfall), die bei weiteren 6 Patienten als einzige der Herzerkrankung vorangehende Beschwerden zu eruieren waren. Alle Patienten klagten über eine mehr oder weniger ausgeprägte allgemeine Leistungsminderung und über Belastungsdyspnoe, 9 Patienten empfanden Ruhedyspnoe. An weiteren Symptomen wurden angegeben: in 23 Fällen eine mehrfache Nykturie (82%), 10x periphere Ödeme (36%), 22x ein präkordiales Brennen oder präkordialer Druck (79%), sowie 20x subjektives Herzstolpern (Palpitationen 71%).

- Laborbefunde:

In 20 Fällen (74%) war als Folge der Entzündung eine mehr oder weniger ausgeprägte Beschleunigung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nachweisbar. 7 der 28 Patienten (25%) hatten eine Verminderung der Serumimmunglobulinfraktion IgG auf weniger als 1100mg/100ml. Die Untersuchung des weißen Blutbildes ergab nur in einem Fall eine mäßige Leukozytose, das Differentialblutbild erlaubte bei einer Patientin Rückschlüsse auf die Ätiologie des Krankheitsbildes. Ebenfalls im wesentlichen unauffällig waren die Bestimmung

Virologisch-serologische Diagnostik (Neutralisationstest)

Klinischer Verdacht: Virus-Myokarditis

NYHA ≥ III

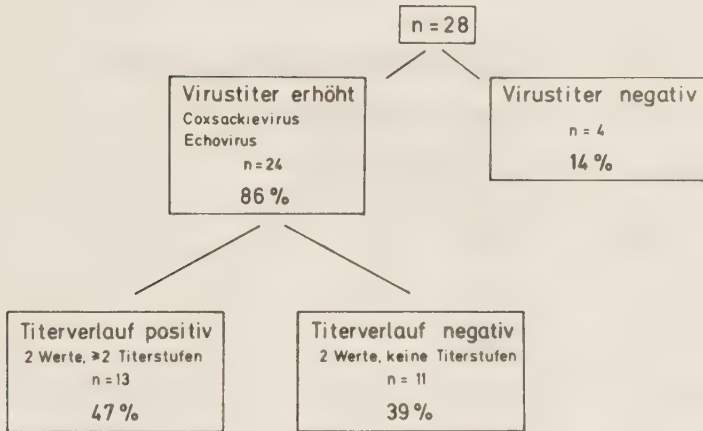


Abb. 3.5.

Darstellung der virologisch-serologischen Befunde des ausgewählten Patientengutes.

Bei 24 Patienten (86%) zeigte sich ein signifikant erhöhter Virustiter, bei 13 Patienten (47%) konnte ein positiver Titerverlauf (2 und mehr Titerstufen) nachgewiesen werden.

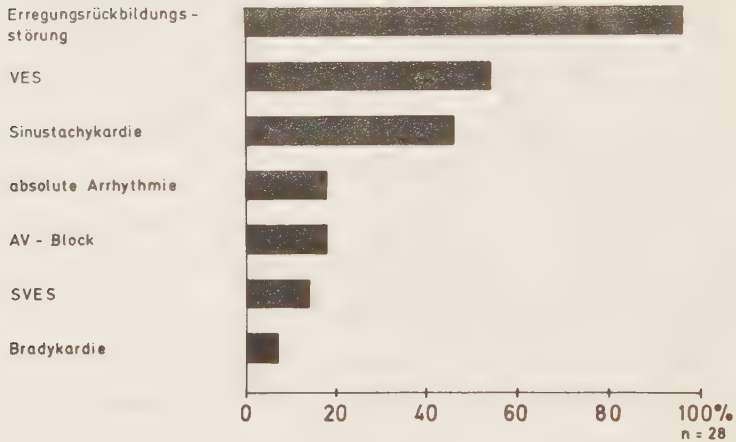
Virusmyokarditis : Elektrokardiographische Befunde

Abb. 3.6.

Patientenkollektiv Virusmyokarditis;

Darstellung elektrokardiographischer Veränderungen.

Bemerkenswert ist die hohe Inzidenz von Erregungsrückbildungsstörungen und ventrikulären Rhythmusstörungen.

der Kreatinphosphokinase (in 2 Fällen vorübergehende geringe Erhöhung), des Antistreptolysintiters und der Serumelektrophorese. Bei 12 Patienten zeigte sich eine leichte Erhöhung der Transaminasen (vorwiegend der γ -GT). Die Bestimmung der Myokardantikörper mit Hilfe des indirekten Immunfluoreszenztestes ergab bei 16 Patienten (57%) positive Befunde mit einer Prävalenz der antinukleären Antikörper aus der IgM-Fraktion. Bei den virologisch-serologischen Untersuchungen konnte bei 24 Patienten (86%) ein erhöhter Antikörpertiter gegen Viren der Coxsackie- und Echogruppen gefunden werden, davon war wiederum bei 13 Patienten ein 2-facher Tittersprung im Verlauf nachweisbar.

- Elektrokardiogramm:

Die Auswertung der EKG-Veränderungen des Patientenkollektivs ergab in 27 Fällen Erregungsrückbildungsstörungen mit deszendierendem ST-Streckenverlauf und präterminal negativen T-Wellen, jedoch in keinem Fall eine ST-Streckenhebung, wie sie bei Perikarditis zu erwarten wäre. Ein Patient zeigte eine unauffällige Erregungsrückbildung, hatte jedoch multiple polytope ventrikuläre Extrasystolen. Insgesamt war die Neigung zu Rhythmusstörungen ein sehr häufig anzutreffender Befund. So hatten 15 Patienten (54%) eine ausgeprägte ventrikuläre und 4 Patienten (14%) eine supraventrikuläre Extrasystolie. Bei 5 Patienten war eine vorher nicht bekannte absolute Arrhythmie bei Vorhofflimmern aufgetreten. 4 davon hatten eine therapeutisch schwer beeinflussbare Tachyarrhythmie. 13 Patienten mit Sinusrhythmus hatten eine Ruhetachykardie mit Frequenzen über 110/min. Die Erregungsleitung blieb ebenfalls nicht unbeeinflusst. Es konnten

Virusmyokarditis : Röntgen - Thoraxbefunde

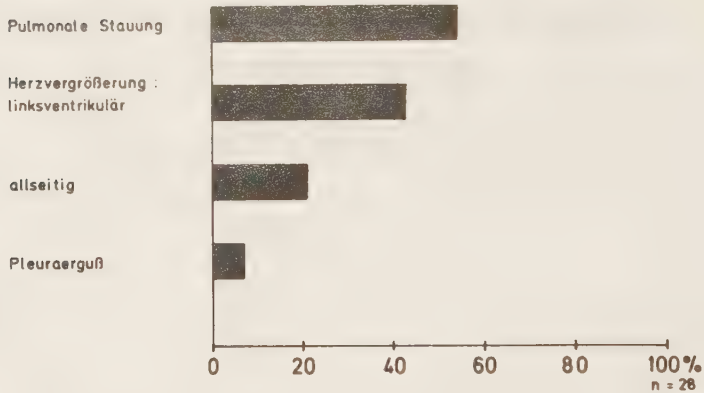


Abb. 3.7.

Patientenkollektiv Virusmyokarditis:
Darstellung röntgenologischer Befunde.

Es ergaben sich i.w. Zeichen der kardialen Insuffizienz ohne differentialdiagnostische Wertigkeit.

in 2 Fällen ein AV-Block I. Grades, in weiteren 2 Fällen ein AV-Block III. Grades, der sich im Verlauf zu einem AV-Block I. Grades zurückbildete, nachgewiesen werden. Ein Patient zeigte einen AV-Block II. Grades Typ Mobitz. Bei 2 Patienten bot sich der ungewöhnliche Befund einer Sinusbradykardie mit Frequenzen unter 50/min.

- Röntgen-Thorax:

Die Auswertung der Thorax-Röntgenbilder (Radiologische Klinik der Universität München, Prof. Dr. Lissner) ergab folgende Befunde: Bei 12 Patienten wurde eine linksventrikuläre, in 6 Fällen eine allseitige Herzvergrößerung angegeben, 15x wurden die Patienten als pulmonal gestaut beurteilt. In 2 Fällen lag ein Pleuraerguß vor. Insgesamt ergaben sich somit 18x die Zeichen der kardialen Dilation bzw. der Ausbildung eines Perikardergusses und in 15 Fällen röntgenologisch der Hinweis auf eine Linksherzinsuffizienz.

- Echokardiographie:

Eine umfassende Darstellung echokardiographischer Befunde muß unterbleiben, da nur bei 18 Patienten des 28 Patienten umfassenden Myokarditiskollektives eine solche Untersuchung durchgeführt wurde. Hierbei ergaben sich bei 14 Patienten eine eingeschränkte Durchmesserverkürzung $< 0,3$ und bei 11 Patienten ein über 56mm vergrößerter linksventrikulär-endsdiastolischer Durchmesser. Der ES-Abstand war bei 7 Patienten erhöht ($> 6\text{mm}$). In einem Fall zeigte sich ein ausgedehnter Perikarderguß.

Virusmyokarditis : Herzkatheterdaten

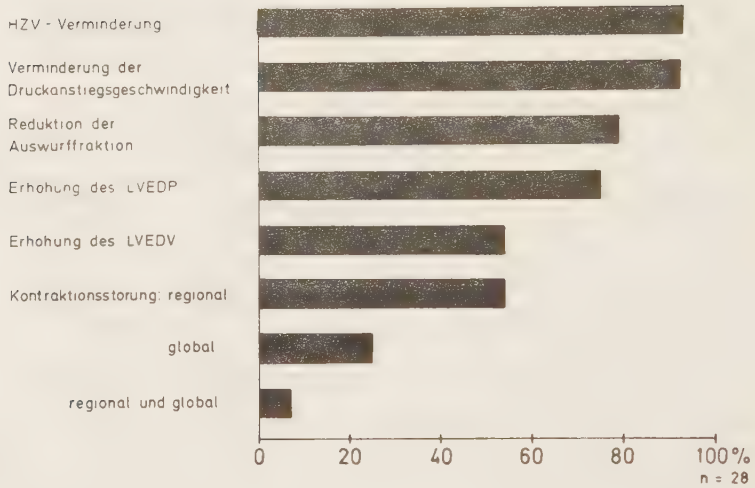


Abb. 3.8.

Patientenkollektiv Virusmyokarditis:

Darstellung der pathologischen Herzkatheterbefunde.

Neben den Folgen der kardialen Pumpfunktionsstörung verdient die hohe Zahl regional betonter Kontraktionsstörungen besondere Beachtung.

- Herzkatheteruntersuchung:

Folgende Herzkathetermeßdaten des Patientenkollektives wurden mit Daten eines gesunden Kontrollkollektives verglichen:

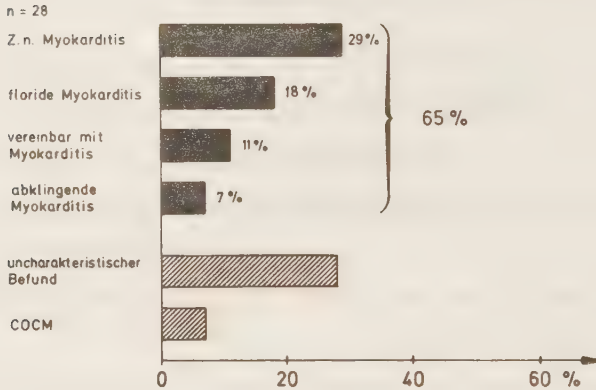
Herzminutenvolumen (l/min Normwert 6,5-7,5 l/min), Herzindex ($=\text{HMV}/\text{m}^2$ Körperoberfläche $> 3,7$), enddiastolisch-linksventrikuläres Volumen (ml, Normwert < 160), Auswurffraktion ($\%$, $> 70\%$, linksventrikulär enddiastolischer Druck (mmHg, 12) und die max. Druckanstiegsgeschwindigkeit im linken Ventrikel $\text{dp}/\text{dt max.}$ (mmHg/sec, > 1600). Dabei ergaben sich folgende Abweichungen infolge der gestörten kardialen Pumpfunktion:

In 93% (26 Patienten) eine Herabsetzung des Herzzeitvolumens und des daraus errechneten Herzindex. In 54% (15 Patienten) eine Zunahme des linksventrikulär enddiastolischen Volumens über 160ml. In 79% (22 Patienten) eine Reduktion der Auswurffraktion unter 70%, davon wiederum bei der Hälfte der Patienten eine Verminderung unter 50%. In 75% (21 Patienten) eine Erhöhung des linksventrikulär-enddiastolischen Druckes über 12mmHg. Die maximale linksventrikuläre Druckanstiegsgeschwindigkeit war bei fast allen Patienten eingeschränkt (93%). Die Auswertung des linksventrikulären Angiogramms ergab bei 15 Patienten (54%) eine regionale, bei 7 (25%) eine globale und bei 2 Patienten eine regional betonte globale Kontraktionsstörung. Bei allen Patienten wurde eine koronare Herzerkrankung mittels Koronarangiogramm bzw. ein Vitium cordis ausgeschlossen.

Myokardbiopsie: histomorphologische Beurteilung*

Virus-Myokarditis – klinischer Verdacht

NYHA III



* G. Hübner, München
E.G.J. Olsen, London

Abb. 3.9.

Die Darstellung gibt die zusammenfassende Diagnose des Pathologen wieder.

In 65% der Fälle erlaubt die histologische Begutachtung der Myokardbiopsie eine differentialdiagnostische Aussage.

- Myokardbiopsie:

Histologische und elektronenmikroskopische Untersuchung:

Die histologischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Myokardbiopsien erfolgte durch G. Hübner, München und E.G.J. Olsen, London. Bei 18 Patienten (65%) wurde aufgrund der histomorphologischen Beurteilung der Verdacht auf eine entzündliche Myokarderkrankung geäußert, 8x ergab sich ein uncharakteristischer Befund, 2x wurde anhand des zur Verfügung stehenden Gewebes die Diagnose einer kongestiven Kardiomyopathie gestellt. Die histomorphologischen Diagnosen der positiven Befunde lauteten je nach Ausmaß der entzündlichen Veränderung Rundzellinfiltrate, Einzelfasernekrose im Bereich von Entzündungszellen, fokale Fibrose, Fasersplitterung):

floride Myokarditis (18%)

vereinbar mit Myokarditis (11%)

abklingende Myokarditis (7%)

und Zustand nach Myokarditis (29%)

In 54% (15 Patienten) konnten entzündliche Infiltrate im Myokardgewebe nachgewiesen werden, 3x wurde die Diagnose z.n. Myokarditis aufgrund von Einzelfasernekrosen, Fasersplitterung und fokaler Fibrose gestellt.

Weitere histologische Veränderungen waren:

Einzelfaserhypertrophie (93%)

Myokardfaserverminderung (25%)

fokale Fibrose (57%), diffuse Fibrose (68%)

Zellkernhypertrophie (43%) und

Einkerbung der Zellkerne (32%)

Virusmyokarditis : histomorphologische Veränderungen

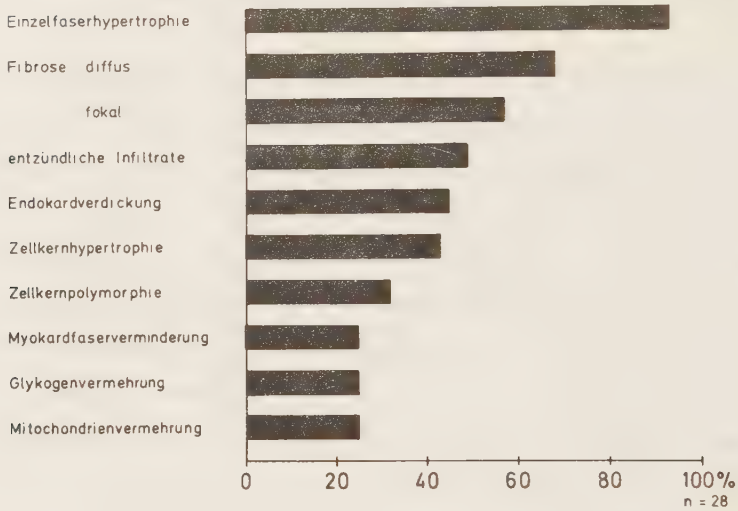


Abb. 3.10.

Darstellung der einzelnen histologischen Veränderungen in der Reihenfolge ihrer Häufigkeit.

(zusammengestellt nach Angaben von Olson, London)

Als wesentliche diagnostische Kriterien imponieren entzündliche Rundzellinfiltrate und eine fokale Fibrose, die tierexperimentell den Folgezustand einer abgelaufenen Entzündung darstellt.

Endokardverdickung (50%)

Elektronenmikroskopisch wurde in je 25% der Fälle eine Glycogen- und eine Mitochondrienvermehrung festgestellt. Intrazelluläre Viruspartikel konnten nicht nachgewiesen werden.

- Immunfluoreszenzoptische Untersuchung:

Die immunfluoreszenzoptische Untersuchung zum Nachweis von intrazellulärem Viruskapsidantigen im Myokardbiopsiegewebe ergab in allen Fällen ein negatives Ergebnis. Dieser Befund deckt sich mit der elektronenmikroskopischen Untersuchung, bei der ebenfalls keine intrazellulären Viruspartikel nachgewiesen werden konnten.

3.1.3. Besprechung

3.1.3.1 Erkrankungshäufigkeit, saisonale und altersabhängige Faktoren

Die Diagnose einer viralen Herzmuskelerkrankung ist schwierig, da einerseits die Symptomatik seitens des Herzens einer großen Variabilität unterliegt und weitere Organmanifestationen ablenkend wirken können, andererseits bedingt durch die Vielzahl der möglichen Erreger ein sicherer Nachweis einer Infektion nicht immer gelingt. ^{3,10,1,155,156,2}

Man muß annehmen, daß eine Erkrankung des Herzens infolge einer Virusinfektion häufiger auftritt als allgemein angenommen wird ⁴². Während einer Coxsackie B5 Epidemie in England 1965 konnte bei 1160 Patienten das Virus isoliert werden, 5% der Patienten hatten Symptome einer kardialen Miterkrankung ³⁶. Bei weiteren Coxsackie B5-Epidemien in

Schottland ^{9,65}, Finnland ⁷² und Australien ¹² wurde eine kardiale Beteiligung in bis zu 12% der Fälle gefunden ⁶⁵.

In Mitteilungen über 40.000 unselektierte Autopsien ⁶³, 417 männliche Unfalltote ¹⁶² und 214 Kindern mit plötzlichem Tod als Folge eines Unfalls ⁶, wurde das Vorkommen einer Myokarditis viraler Genese mit 2,3%-5,0% angegeben. Bei Fällen mit unerwartetem plötzlichem Kindstod konnte eine wesentlich höhere Myokarditisinzidenz nachgewiesen werden (Brandt 17% ⁶, Okuni 21% ¹²⁷).

In einer retrospektiven Studie von Wedler ¹⁷⁵ wurde die Häufigkeit der Myokarditisfälle in einem allgemeinen Obduktionsgut mit 1,9% angegeben, das Verhältnis von Herzinfarkt- zu Myokarditis-Toten betrug immerhin 5,5:1.

Die Erkrankungshäufigkeit an einer picorna-virusbedingten (Poliomyelitisviren, Coxsackie A und B, Echoviren) Herzmuskelerkrankung scheint von saisonalen Bedingungen abhängig. So wurden in den USA zwischen Juni und Oktober eines Jahres 98% Coxsackie A und B und 85% Echovirus-identifikationen durchgeführt ¹⁸⁷. Diese jährliche Verteilung erklärt die Häufung von viralen Herzmuskelerkrankungen im Sommer und frühen Herbst ^{13,100,52}.

Die Erkrankungsinzidenz wird ebenfalls vom Alter und dem Geschlecht der infizierten Individuen beeinflusst. So scheinen vor allem Neugeborene und Säuglinge im ersten Lebensjahr und dann wieder junge Erwachsene gefährdet ^{7,59,83,174}. Das männliche Geschlecht ist mit 2/3 aller berichteten Erkrankungsfälle deutlich häufiger betroffen ^{9,55,142,156}.

Die im Vorangegangenen dargestellten Ergebnisse geben eine Übersicht über die symptomatischen Angaben und Untersuchungsbefunde eines an

an Myokarditis erkrankten Patientengutes. Die für die Zuordnung der Patienten zum Myokarditiskollektiv zugrunde gelegten diagnostischen Kriterien stellen einen Vorschlag dar, die diagnostische Treffsicherheit zu erhöhen¹⁸.

3.1.3.2 Symptomatologie der viralen Herzmuskelerkrankungen:

Das klinische Bild einer akuten Myokarditis ist gekennzeichnet durch eine plötzlich auftretende allgemeine Leistungsminderung mit körperlicher Abgeschlagenheit, sowie Zeichen der myokardialen Insuffizienz. Hierunter fallen Dyspnoe bei körperlicher Belastung und in Ruhe, abendliche Bein- und Knöchelödeme und Nykturie. Weitere Symptome der entzündlichen Herzerkrankung sind Hypotonie, Herzrhythmusstörung die vom Patienten als Palpitationen empfunden werden können, eine Ruhetachykardie und sehr häufig präkordiale Schmerzen, wobei diese ähnlich einer Angina pectoris bei koronarer Herzerkrankung sein können^{156,175}.

Häufig geht der kardialen Symptomatik ein grippaler Infekt mit Beschwerden seitens des oberen Respirationstraktes oder gastrointestinaler Symptome im zeitlichen Abstand von 10-14 Tagen voraus. Fieber ist kein obligates Symptom der myokardialen "Folgeerkrankung", meist nur von kurzer Dauer und nur in wenigen Fällen ist eine Körpertemperaturerhöhung auf mehr als 39°C nachweisbar.

In einem von Smith¹⁵⁶ beschriebenen 42 Patienten umfassenden Krankengut hatten 15 Patienten neben der kardialen Symptomatik eine grippeähnliche Erkrankung mit Fieber, Unpäßlichkeit, Gliederschmerzen, Halsweh und Husten. 9 Patienten waren lediglich mit Grippeerkrankten in Berührung gekommen, ohne selbst grippale Symptome zu entwickeln.

Je 5 Patienten boten Lymphknotenvergrößerungen im Nacken und den Axillen, Orchitis und Pneumonien mit Pleuraerguß. Bei 4 Patienten waren Hautausschläge, bei 2 Patienten eine Enzephalomyelitis aufgetreten. Ebenfalls in je 2 Fällen konnte eine Hepatitis, eine Nephritis und eine Enteritis nachgewiesen werden. Ein Patient litt über Wochen unter polyarthritischen Beschwerden. Immerhin 16 Patienten (38%) entwickelten ein in der Regel für kurze Zeit auskultierbares perikardiales oder pleurokardiales Reibegeräusch. Lediglich 11 Patienten (26%) dieses Krankengutes boten die Symptome einer akuten, schweren kardialen Dekompensation.

Von Wedler¹⁷⁵ wurde ebenfalls auf die Symptomenvielfalt bei Myokarditis hingewiesen und als die 4 häufigsten Beschwerdetypen Dyspnoe, präkordialer Schmerz, Fieber und Zeichen der kardialen Stauung genannt. Als weiterer diagnostischer Hinweis wird die persistierende Tachykardie nach Fiebrerrückgang herausgestellt^{149,175}.

Anschütz² hält plötzlich aufgetretene Vorhof- oder Ventrikularrhythmien, Störungen der Überleitung, wechselnde elektrokardiographische Veränderungen, Herzvergrößerung, Perikardreiben, Perikardergüsse oder einen plötzlichen Herzstillstand für diagnostisch richtungsweisend. Als Zeichen der Herzinsuffizienz werden Galopprrhythmus, Blutdruckabfall und Herzvergrößerung angegeben, der Erkrankungsbeginn kann sich unter dem Bild des akuten Schocks mit Kreislaufkollaps manifestieren.

Für Schölmerich¹⁴⁹ können Hypotonie, gesteigerte Schweißsekretion, Schwächegefühl und leichte Erschöpfbarkeit Zeichen postinfektiöser Kreislauf labilität wie auch einer echten Myokarditis sein. Oppressionsgefühl in der Herzgegend, Palpitationen, selbst Extrasystolen besitzen keine besondere Spezifität, da sie ebenso funktioneller wie organischer

Natur zu sein vermögen ^{71,80}. Dagegen sind Dyspnoe und Orthopnoe, sofern sie nicht durch eine Viruspneumonie bedingt sind, Zeichen einer schweren kardialen Beteiligung. In solchen Fällen lassen sich klinisch Hinweise für Lungenstauung oder Rechtsherzinsuffizienz nachweisen. In einer Arbeit von Sainani ¹⁴² werden als Ausdruck einer Coxsackie B-Infektion grippale Symptome, gastrointestinale Beschwerden, Muskel- und Gelenkschmerzen sowie als Zeichen der kardialen Beteiligung präkordiale Schmerzen und Dyspnoe genannt.

Abelmann ¹ betont ebenfalls die Spannbreite klinischer Symptome bei viraler Herzmuskelerkrankung von annähernder Beschwerdefreiheit bis hin zum plötzlichen unerwarteten Tod. Neben den schon genannten Erscheinungen wie Arrhythmie, Leistungsstörungen und wechselnde EKG-Veränderung wird die Möglichkeit kardialer Dekompensation mit Kreislaufchock ohne Zeichen der myokardialen Dilatation hervorgehoben.

Todesfälle als Folge von Coxsackie B-Infektionen des Herzens werden vor allem bei Neugeborenen und Säuglingen beschrieben ^{27,59,155,181}, ebenfalls gefährdet an einer viralen Myokarditis zu erkranken und schwere Verläufe zu erleiden, erscheinen junge Männer, wohingegen die spontane Ausheilungsrate bei älteren Erwachsenen höher eingeschätzt wird ¹⁵⁵. Dies könnte erklärt sein durch die Vermutung, daß körperliche Aktivität während einer Virusinfektion die Wahrscheinlichkeit einer kardialen Mit-erkrankung erhöht und den Verlauf ungünstig beeinflusst ^{58,97,170}.

Als weitere prädisponierende Faktoren werden, teils durch tierexperimentelle Befunde belegt, myokardiale Hypoxie ^{1,97,131,170}, bakterielle Begleitinfektionen des Respirationstraktes ¹³¹, Behandlung mit Kortikoiden ^{85,86}, Schwangerschaft ¹³³, Unterernährung ^{183,184}

und Vorerkrankungen wie arterielle und/oder pulmonale Hypertonie, Anämie und fieberhafte Infektionen ¹ genannt.

Somit sollte bei dem Zusammentreffen von plötzlich auftretenden "Herzschmerzen", Herzrhythmusstörungen und Zeichen einer kardialen Dekompensation im Anschluß an einen fieberhaften Infekt an die Diagnose einer viralen Herzmuskelerkrankung gedacht und diagnostische Schritte eingeleitet werden.

3.1.3.3 Laborbefunde bei viraler Herzmuskelerkrankung

Nur bei wenigen Infektionserkrankungen, wie z.B. Röteln oder Mumps ist allein aufgrund der klinischen Symptomatologie eine sichere Diagnosestellung möglich, weit öfters muß durch aufwendige Labortests der Versuch unternommen werden, die Virusätiologie der Erkrankung nachzuweisen. Am hilfreichsten wäre die Isolation des Virus aus Myokardgewebe oder einem Perikarderguß, bzw. der Nachweis von Virusantigen im Myokardgewebe ⁹⁸ mit Hilfe der direkten oder indirekten Immunfluoreszenztechnik. Die Ergebnisse dieses Nachweisversuches hängen jedoch in hohem Maße von der richtigen Präparation der Schnitte, der Qualität der verwendeten Testseren, der Erfahrungheit des Untersuchers und der richtigen technischen Ausrüstung ab ^{90a}. Weitere Schwierigkeiten ergeben sich aus der hohen Rate von unspezifischen Immunfluoreszenzbindungen gerade am Myokardgewebe ^{124a} und dem Mangel von Spezifität und Sensitivität dieser Methode bei dem Nachweis von Picornaviren. Darüber hinaus wurde berichtet, daß bei tierexperimentellen Untersuchungen trotz des Nachweises hoher Virustiter im Herzmuskelgewebe keine spezifische Immunfluoreszenz gefunden werden konnte ^{138a}. Eine weitere Möglichkeit stellt der Versuch dar, aus anderen Körperflüssigkeiten wie Urin, Faeces und Rachenspülwasser eine Virusisolation und Identifikation anzustreben.

Der überwiegende Teil der Diagnosen viraler Erkrankungen basiert auf dem Nachweis von Virusantikörpern im Serum, wobei ein vierfacher Titeranstieg (2 Titerstufen) im Verlauf wünschenswert ist. Im allgemeinen können spezifische Antikörper erstmals wenige Tage bis eine Woche nach Beginn der klinischen Symptomatik nachgewiesen werden ^{92a}, sie stammen aus der IgM-Klasse und erreichen ihr Titermaximum nach 2-3 Wochen. Dagegen setzt die IgG-Antikörperproduktion später ein, ein hoher Titer ist monatelang, teilweise noch nach Jahren nachweisbar ^{148a}. Die Fähigkeit dieser Antikörper, Komplement zu binden, Antigen zu präzipitieren oder Viren daran zu hindern, Indikatorzellen zu befallen, führte zu Labortesten wie die Komplementbindungsreaktion, den Hämagglutinationshemmtest und den Neutralisationstest ^{77a}.

In neuerer Zeit wurden durch Radioimmunoassays (RIA) und enzyme-linked immunoabsorbant assays (ELISA) Methoden entwickelt, die den raschen Nachweis spezifischer IgM-Antikörper ermöglichen und somit eine "frische" Virusinfektion anzeigen. Neben diesen virologisch-serologischen Untersuchungsverfahren weisen weitere Labordaten auf die entzündliche Genese des Krankheitsbildes hin. In ca. 3/4 der Fälle ^{77,142,156} findet sich eine deutliche Erhöhung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, wesentlich seltener eine in der Regel geringe Leucocytose mit relativem Anstieg der neutrophilen Granulozyten. Die Bestimmung der Serumenzyme kann Anstiege der Laktatdehydrogenase, der Aldolase, der Kreatinphosphokinase, der Glutamatoxalacetattransaminase, der Glutamatpyruvattransaminase und der γ -GT aufdecken ¹⁴². Diese Daten ergeben jedoch keine charakteristische Konstellation und sind somit von geringer diagnostischer Wertigkeit.

Einen wesentlich höheren Stellenwert scheint die Bestimmung der Myokard-

antikörper mit Hilfe des indirekten Immunfluoreszenztestes am Meerschweinchenmyokard zu besitzen¹⁸. Zwar wurden bei einer Vielzahl kardialer Erkrankungen wie rheumatischer Karditis^{15,81}, Postmyokardinfarktsyndrom⁴⁴, Postkardiotomiesyndrom¹⁷², primären Kardiomyopathien^{16,141} und Myokarditis^{18,104} humorale Antikörper im Serum der Patienten gegen Myokardgewebe nachgewiesen, doch scheint gerade die Befundkonstellation positiver nukleärer und zytoplasmatischer Bindungsmuster, vorzugsweise durch Antikörper aus der IgM-Fraktion, charakteristisch für das Vorliegen einer Virusmyokarditis. Immerhin waren in unserem Krankengut über 40% derartig positive Befunde zu erheben. Ob diesen Myokardantikörpern lediglich eine diagnostische Bedeutung zukommt oder ob sie für die Pathogenese der Erkrankung eine Rolle spielen, ist noch ungeklärt.

Erwähnenswert sind in diesem Zusammenhang Untersuchungen von Eckstein, Mempel und Bolte⁴⁷, die eine erniedrigte Suppressorzellaktivität sowohl bei Patienten mit dilativer Kardiomyopathie als auch mit Myokarditis ergaben. Diese Patientenlymphocyten zeigten darüber hinaus eine spezielle HLA-Antigenkonstellation, was eine genetische Disposition für die Erkrankung an Myokarditis bedeuten könnte. Die erniedrigte T-Zellsuppressoraktivität wäre verantwortlich für eine überschießende Antikörperproduktion durch B-Lymphocyten gegen Virusantigen und durch Zytolyse freigesetzte Herzmuskelzellantigene.

3.1.3.4 EKG und Röntgen-Thorax-Befunde:

Die bei einer Myokarditis auftretenden EKG-Alterationen sind abhängig von dem Ort der entzündlichen Läsion, betreffen Erregungsbildung, Erregungsleitung und Erregungsrückbildung und haben durch ihre Erscheinungsvielfalt keine differentialdiagnostische Bedeutung. Andererseits zeigen sie die kardiale Beteiligung im Rahmen der vermuteten Infektions-erkrankung an.

Die häufigsten Veränderungen sind Erregungsrückbildungsstörungen und supraventrikuläre und ventrikuläre Ektopie. Manifestiert sich die Erkrankung i.W. als Perikarditis, sind vorübergehende ST-Strecken-elevationen unter Umständen in allen 3 Standardableitungen nachweisbar ¹⁵⁶. Die Variation der elektrokardiographischen Veränderungen kann von geringer Abflachung der T-Welle bis zu stärkster Vektorablenkung durch lokalisierten oder generalisierten Potentialverlust reichen, so daß in schweren Fällen infarktähnliche Bilder resultieren ¹⁴⁹. Über das Auftreten von vorübergehenden und auch bleibenden Q-Zacken wurde berichtet ^{142,156}.

Die Bewertung der abweichenden EKG-Formen wird durch die Kenntnis des EKG vor Krankheitsbeginn natürlich wesentlich erleichtert. So wird die Beobachtung eines am Anfang des Krankheitsprozesses noch normalen EKG's, über eine Abflachung des T zur spitznegativen T-Konfiguration und einer langsamen Rückbildung zur Norm, als hochsignifikantes Zeichen einer viralen Herzmuskelerkrankung angesehen ¹⁴⁹.

Faßt man mitgeteilte Beobachtung und eigene Befunde zusammen, so sind gerade rasche Änderungen des EKG's im Krankheitsverlauf ein wesentliches Merkmal einer Myokarditis.

Die röntgenologisch faßbaren Veränderungen als Folge der verminderten kardialen Pumpfunktion und entzündlich bedingten Gefügedilatation bei Myokarditis, sind Vergrößerung des Herzens und pulmonale Stauung wechselnden Ausmaßes. Diese, für sich gesehen uncharakteristischen Befunde, erlangen diagnostische Bedeutung, wenn sie rasch und als Folge einer grippalen Erkrankung auftreten ^{1,77,149,175}. Die Entscheidung, ob die Vergrößerung der Herzsilhouette nur durch myokardiale Dilatation und/oder durch einen Perikarderguß verursacht wird, kann häufig nur durch zusätzliche Untersuchungen, wie Echokardiographie oder Herzkatheteruntersuchung getroffen werden. Neben diesen kardialen Veränderungen und Folgeerscheinungen können Infiltrate der Lunge und Pleuraergüsse einen Hinweis auf das Vorliegen eines entzündlichen Krankheitsbildes geben ^{3,156}. Naturgemäß haben diese röntgenologischen Befunde jedoch keine hohe Wertigkeit im Sinne der differentialdiagnostischen Klärung, erleichtern jedoch durch die Möglichkeit mehrfacher Kontrolluntersuchungen die Beurteilung des Krankheitsverlaufes und der therapeutischen Maßnahmen zur Behandlung der Herzinsuffizienz.

3.1.3.5 Echokardiographie bei viraler Herzmuskelerkrankung

Die sich aus der M-Mode-Auswertung ergebenden pathologischen Parameter sind Ausdruck der gestörten kardialen Pumpfunktion und der Herzdilatation. Sie erlauben eine Abschätzung des Schweregrades der Herzerkrankung, ohne jedoch eine differentialdiagnostische Wertigkeit zu besitzen. In dieser Hinsicht bedeutsamer ist der Nachweis eines in

kurzer Zeit aufgetretenen Perikardergußes und regionaler Kontraktionsstörungen, die durch die zweidimensionale Darstellung (Sektorscan) erkannt werden können. Darüber hinaus ermöglicht die Echokardiographie kurzfristige, den Patienten nicht belastende Verlaufskontrollen.

3.1.3.6 Herzkatheteruntersuchung:

Die Folge einer entzündlichen Herzmuskelerkrankung sind myokardiale Dilatation und Abnahme der myokardialen Kontraktionskraft.

Das morphologische Äquivalent der Dilatation im mikroskopischen Bereich stellt im akuten Stadium eine Vergrößerung der Abstände der Z-Streifen und ein interstitielles Ödem dar, im weiteren Verlauf der Erkrankung Hypertrophie der erhaltenen Myokardfasern und interstitielle, teils fleckige, teils diffuse Fibrose ^{11,149}. Die Abnahme der Kontraktionskraft resultiert aus der Zahl der durch Viren befallenen Myokardzellen, da diese durch Umstellung des Zellstoffwechsels oder gar durch Einzelfasernekrose als kontraktile Elemente ausfallen. Diese Veränderungen finden ihr Korrelat in Ventrikulangiographie und hämodynamischen Meßwerten.

Durch die Auswertung des Angiogramms des linken Ventrikels können enddiastolisches und endsystolisches Volumen bestimmt und daraus die Auswurffraktion berechnet werden. Bei 15 Patienten des hier dargestellten Krankengutes war eine Vergrößerung des EDV über 160ml nachweisbar, das größte gemessene EDV betrug 274ml. 11 Patienten hatten eine Auswurffraktion von weniger als 70%, 4 Patienten weniger

als 50% und 7 Patienten weniger als 40%. Die niedrigste Auswurffraktion betrug 20%, der errechnete Durchschnitt ergab eine AF von 54%. Vergleicht man diese Daten mit den zumeist nur qualitativen Angaben in der Literatur ^{3,149} bestätigen sie zwar die Aussage, daß als Folge einer Entzündung eine kardiale Dilatation auftreten kann, diese scheint jedoch bei weitem nicht so ausgeprägt, wie bisher angenommen wurde und liegt beispielsweise deutlich niedriger als die von Patientenkollektiven mit dilativer Kardiomyopathie ^{82,167,181a}. Bei diesem Krankheitsbild ergibt sich in der Regel eine gute Korrelation zwischen Zunahme der Herzgröße und Einschränkung der Auswurffraktion; dies kann bei Patienten des Myokarditiskollektives nicht in diesem Umfang beobachtet werden. Gerade das Zusammentreffen von deutlich erniedrigter Auswurffraktion und noch normaler Herzgröße bzw. geringer Zunahme, scheint deshalb ein charakteristisches Merkmal einer entzündlichen Herzmuskelerkrankung darzustellen.

Einen weiteren differentialdiagnostischen Hinweis gibt die Auswertung des systolisch-diastolischen Bewegungsablaufes. Ein normales Koronarangiogramm vorausgesetzt, lassen regionale Kontraktionsstörungen, die sich als hypokinetische oder akinetische Zonen darstellen, an eine fokale Schädigung bedingt durch einen Entzündungsherd, denken. Eine solche regionale linksventrikuläre Bewegungsstörung war bei 17 Patienten (61%) nachweisbar. Andererseits kann aus einem diffusen entzündlichen Befall des Myokards eine globale Kontraktionsstörung resultieren. Dies trat nur bei den Patienten (7; 25%) auf, deren Herzen auch die ausgeprägteste Dilatation aufwiesen. Die Schädigung des kontraktilen Apparates bewirkt jedoch nicht nur Störungen des Bewegungsablaufes oder eine Herzgrößenzunahme, sondern hat auch Änderungen der hämodynamischen Meßwerte zur Folge. Als

empfindlichster Parameter der kardialen Krafteinbuße erweist sich die maximale Druckanstiegsgeschwindigkeit ($dp/dt \max$), die nur in 2 Fällen nicht vermindert war. Im Gegensatz zum Anstieg des linksventrikulär-enddiastolischen Druckes (LVEDP), der ebenfalls einen sensiblen Gradmesser der Herzinsuffizienz darstellt (21 Patienten, 75%) und in enger Beziehung zu den subjektiven Beschwerden wie Belastungs- und Ruhedyspnoe steht, scheint $dp/dt \max$ unabhängig von dem jeweiligen Behandlungszustand, d.h. durch effiziente diuretische Therapie und Senkung der Vorlast kann ein anfänglich erhöhter LVEDP in den Normbereich gelangen, die maximale Kraftanstiegsgeschwindigkeit bleibt weitgehend unbeeinflusst. Umgekehrt kann durch Volumenbelastung (Kontrastmittel) oder Vorlasterhöhung (Angiotensin) ein primär normaler LVEDP deutlich pathologische Werte annehmen. Eine sehr ausgeprägte Erhöhung des enddiastolischen Druckes weist auf einen protrahierten Krankheitsverlauf hin ¹⁴⁹.

Die Folgen der gestörten kardialen Pumpfunktion manifestieren sich auch in den Werten des Herzminutenvolumens und des daraus errechneten Herzindex. So wurde bei 26 Patienten (93%) ein von der Norm abweichender Herzindex bestimmt. Dieser Parameter ist jedoch die Resultante aus dem Einzelschlagvolumen und der Herzfrequenz und läßt daher nur bedingt Rückschlüsse auf die kardiale Insuffizienzkomponente zu. Zusammenfassend ergeben sich somit folgende differentialdiagnostisch verwertbaren Charakteristika:

Nachweis einer gestörten kardialen Pumpfunktion, ersichtlich an der Verminderung der maximalen Kraftanstiegsgeschwindigkeit, der Erhöhung des linksventrikulär-enddiastolischen Druckes unter Belastungsbedingungen und der Einschränkung der Auswurf fraktion,

bei ventrikulographisch normal großem oder nur gering vergrößertem Herzvolumen und ventrikulographische Darstellung einer regionalen Kontraktionsstörung.

3.1.3.7 Histomorphologie:

Die histomorphologischen Veränderungen am Myokard nach einer Infektion mit verschiedenen Viren sind ähnlich. Zu Beginn der Erkrankung findet man hypereosinophile Myokardfasern, ein ausgedehntes interstitielles Ödem und nur wenige Entzündungszellen. Im weiteren Verlauf verlieren infizierte Myokardfasern ihre Querstreifung, das Zytoplasma kann verklumpen, Fasern splintern oder lösen sich gänzlich auf und gehen zugrunde. Die degenerativen oder teilweise nekrotischen Fasern sind gewöhnlich umgeben von Rundzellen, wie Lymphocyten, Plasmazellen und Makrophagen, jedoch sind auch neutrophile und eosinophile Granulozyten und Histiozyten auffindbar ^{26,27,124}.

Der typische Befund, der die histologische Diagnose einer floriden Myokarditis erlaubt, ist das scheinbare Eindringen von Rundzellen in teilnekrotische aufgesplitterte Myokardfasern ("Anknabbern") ^{53,129}. Finden sich Rundzellinfiltrate ohne erkennbare Fasernekrosen, kann bei Kenntnis des klinischen Verlaufes eine chronische Myokarditis angenommen werden. Die Folgen einer viralen Herzmuskelentzündung sind entweder interstitielle diffuse oder fokale Fibrose an den Stellen der Myokardfasernekrosen bei akuter Myokarditis mit rascherer Heilung und Myokardfaserverlust. Fast regelhaft kommt es dadurch zu einer Hypertrophie der nicht befallenen Herzmuskelzellen, zusätzlich kann eine Zellkernhypertrophie oder eine Endokardverdickung auftreten. Im

ultrastrukturellen Bereich lassen sich als eher unspezifische Zeichen Mitochondrien und Glykogenvermehrung nachweisen. Diese Befunde charakterisieren somit den Zustand nach einer abgelaufenen Virusmyokarditis.

Durch immunhistologische Untersuchungen mit Hilfe des direkten Immunfluoreszenztestes konnten gewebsgebundene Antikörper vorwiegend aus der Immunglobulin G-Fraktion vom antisarkolemmalen Typ nachgewiesen werden. Darüber hinaus fanden sich gelegentlich Bindungen von C3- und C4-Komplement meist im Bereich von Gefäßen. Inwieweit diese Befunde pathogenetische Bedeutung haben, ist noch ungeklärt ¹⁰⁵.

Bei Patienten mit dilativer Kardiomyopathie ergab sich ebenfalls der Nachweis antisarkolemmaler IgG-Antikörper, hierbei korrelierte die Bindungsaktivität mit dem Schweregrad der klinischen Symptomatologie, d.h. eine positive Immunfluoreszenz fand sich vorzugsweise bei denjenigen Patienten, bei denen die Herzinsuffizienzsymptomatik verhältnismäßig hochgradig war ¹⁹.

Sämtliche Versuche durch immunfluoreszenzoptische Methoden Virusantigen in den Myokardzellen nachzuweisen bzw. mikrobiologisch Viren aus Myokardzellen anzuzüchten, mißlangen. Eine Erklärung hierfür könnten tierexperimentelle Untersuchungen darstellen, bei denen ein immunfluoreszenzoptischer Virusnachweis bis maximal zum 21. Tag nach Infektion gelang ¹⁶⁷ (eigene Untersuchungen). Geht man davon aus, daß bei menschlichen Myokarditiden der Infektionsverlauf ähnlich ist, ergibt sich in den meisten Fällen ein zu langes Zeitintervall zwischen

Erkrankungsbeginn und der Durchführung der Herzkatheteruntersuchung mit Myokardbiopsie.

Zu gleichen Überlegungen gelangt Takatsu,¹⁶⁷ der an 71 Biopsien ebenfalls keinen Virusantigennachweis führen konnte. Im Gegensatz hierzu gelang Burch der immunfluoreszenzoptische Nachweis von viralem Antigen in Endokard, Myokard, Epikard und Klappengewebe von Herzen Verstorbener^{26,27}. In Einzelfallbeschreibungen wurde darüber hinaus über erfolgreiche Isolationsversuche von Coxsackie B-Viren aus Myokardbiopsiematerial berichtet^{101,164}.

Faßt man diese Ergebnisse zusammen, so kann man in ca. 60-70% der Fälle histologisch einen positiven Befund im Sinne der vermuteten Diagnose Myokarditis erwarten. Die Differenzierung in akute und chronische Myokarditis kann zusätzlich einen Hinweis auf die Prognose der Erkrankung geben⁵¹. Immunhistologische Untersuchungen erlauben möglicherweise einen Hinweis auf den Aktivitätsgrad der Erkrankung. Soll zur Diagnosesicherung ein immunhistologischer oder mikrobiologischer Virusnachweis gelingen, muß die Biopsie möglichst früh nach Erkrankungsbeginn an verschiedenen Entnahmestellen erfolgen, um die Trefferquote zu erhöhen.

3.1.4. Zusammenfassung der klinischen Untersuchungsergebnisse

Ziel dieses Abschnittes der Arbeit war eine Darstellung der klinischen Symptomatik und der Untersuchungsbefunde eines an Virusmyokarditis erkrankten Patientenkollektives unter besonderer Berücksichtigung mittels invasiver Diagnostik gewonnener myokardialer Kontraktionsparameter und histologischer sowie immunfluoreszenz-optischer Untersuchungsbefunde rechtsventrikulärer Myokardbiopsien. Anhand dieser Ergebnisse und durch Vergleich mit dem Schrifttum sollte auf die Schwierigkeit der Diagnosesicherung hingewiesen werden. Zur Erhöhung der diagnostischen Treffsicherheit wurden 4 Merkmale genannte, von denen mindestens 3 erfüllt sein mußten, daß die Patienten dem Myokarditiskollektiv zugeordnet wurden.

Im einzelnen ergaben sich folgende Befunde:

- 1) Die Symptomatik der viralen Herzmuskelentzündung ist geprägt durch "Herzschmerzen" (präkordialer Druck, präkordiales Brennen 79%), subjektives Herzstolpern (Palpitationen 71%), Belastungsdyspnoe (100%) und Ruhedyspnoe (32%), sowie durch eine generelle allgemeine Leistungsminderung (100%). Als Zeichen der Herzinsuffizienz imponieren eine mehrfache Nykturie (82%) und periphere Ödeme (36%). In 68% der Fälle gehen eine Grippe, teils mit gastrointestinalen Beschwerden (21%) oder nur gastrointestinale Erscheinungen (Durchfall, Erbrechen 21%) der kardialen Erkrankung voraus.
- 2) Bei 24 Patienten (86%) konnte ein erhöhter Virusantikörper-Titer ermittelt werden, dabei war in 54% ein 2-facher Tittersprung im Ver-

lauf nachweisbar. Die Bestimmung der Myokardantikörper mit Hilfe des indirekten Immunfluoreszenztestes ergab in 54% positive Befunde, davon waren 53% antinukleäre Antikörper aus der IgM-Fraktion. Weitere Laborbefunde: 20x Erhöhung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (74%), 7x Verminderung der Serumimmunglobulinfraktion G auf weniger als 1100mg/100ml (25%), 12x Erhöhung der Transaminasen (43%), sowie 2x vorübergehender CK-Anstieg (7%).

3) Das Elektrokardiogramm zeigte folgende Veränderungen:

Erregungsrückbildungsstörungen mit descendierendem ST-Streckenverlauf (96%), ventrikuläre Extrasystolie (54%), supraventrikuläre Extrasystolie (14%), absolute Arrhythmie (18%), Tachyarrhythmie (14%), Sinustachykardie (46%), Sinusbradykardie (7%), AV-Block I. Grades (7%), AV-Block III. Grades (7%), AV-Block II. Grades Typ Mobitz (4%).

4) Das Röntgen-Thoraxbild ergab in 43% eine linksventrikuläre, in 21% eine allseitige Herzvergrößerung, in 54% eine pulmonale Stauung und 2x (7%) einen Pleuraerguß.

5) Die Auswertung der bei 18 Patienten durchgeführten eindimensionalen Echokardiographie ergab in 14 Fällen (77%) eine eingeschränkte linksventrikuläre Durchmesserverkürzung (0,3), in 11 Fällen (61%) einen vergrößerten linksventrikulär-enddiastolischen Durchmesser und in 7 Fällen einen erhöhten ES-Abstand (39%). In einem Fall war ein ausgedehnter Perikarderguß nachweisbar.

- 6) Die Herzkathetermeßdaten wichen wie folgt von den Normwerten ab:

Herabsetzung des Herzindex in 93%,
 Reduktion der linksventrikulären Auswurffrac-tion in 79%,
 Zunahme des linksventrikulär-enddiastolischen Volumens in 54%,
 Erhöhung des linksventrikulär-enddiastolischen Druckes in 75%,
 Einschränkung der maximalen Kraftanstiegsgeschwindigkeit in 93%,
 das linksventrikuläre Angiogramm zeigte in 54% eine regionale, in
 25% eine globale und in 7% eine regional betonte globale Kon-
 traktionsstörung.

- 7) Die histomorphologische Begutachtung der rechtsventrikulären Myo-
 kardbiopsie ergab bei 18 Patienten (65%) den Hinweis auf eine ent-
 zündliche Herzmuskelerkrankung.

Die Diagnosen lauteten:

"Floride Myokarditis" (18%), "Vereinbar mit Myokarditis" (11%),
 "Abklingende Myokarditis" (7%), "Zustand nach Myokarditis" (29%).

Die einzelnen histologischen Veränderungen waren:

Entzündliche Infiltrationen (54%), Myokardfaserhypertrophie (93%),
 Verlust von Myokardfasern (25%), diffuse Fibrose (68%), fokale
 Fibrose (57%), Zellkernhypertrophie (43%), Kernpolymorphismus
 (32%), Endokardverdickung (50%), Glykogen- und Mitochondrienver-
 mehrung in je 25% der Fälle.

- 8) Der Versuch des Nachweises viralen Antigen im menschlichen Myo-
 kardgewebe mit Hilfe eines indirekten Immunfluoreszenztestes ergab
 in keinem Fall ein positives Ergebnis.

3.2. Virale Herzmuskelerkrankung - tierexperimentelle Untersuchungen

3.2.1. Coxsackie B-Virusmyokarditis bei Mäusen, - allgemeine Kenntnisse:

Seit über 3 Jahrzehnten werden Tiermodelle entwickelt, an denen man klinische und pathologische Veränderungen einer Virusmyokarditis beobachten kann bzw. sich Aufschlüsse über Pathogenese und Abwehrmechanismen erhofft. Anfänglich wurden Viren oder sog. "filtrable Agentien" benützt, die von erkrankten Tieren gewonnen wurden ^{73,131}. In der Folge wurden Viren von Menschen isoliert und auf Tiere übertragen. Viren, die von Myokarditiserkrankten stammten, waren meist primär kardiotrop ^{102,174} (V 046), andernfalls konnte durch mehrfache Tierpassage eine Kardiotropie erreicht werden ⁸⁶.

Bei diesen Tierversuchen wurden am häufigsten Coxsackie B-Viren verwendet, da diese Infektionserreger nicht nur die vorherrschende Ursache für menschliche Myoperikarditiden darstellen ^{66,156}, sondern auch leicht in vivo und in vitro anzüchtbar sind. Darüber hinaus führen Coxsackie B-Infektionen bei Tieren zu weiteren Organerkrankungen, die ebenfalls beim Menschen vorkommen ^{130,183}. Anfänglich wurden diese experimentellen Studien an verschiedenen Tieren wie Mäusen, Hamstern und Affen durchgeführt ^{38,39,85,114, 116,174}, später erlangte das Mäusemodell die wesentliche Bedeutung, da es die meisten Erkenntnisse über Immunologie und Pathophysiologie einer viralen Myokarditis erbrachte. Im Folgenden soll vor der Darstellung eigener experimenteller Ergebnisse ein Überblick über bisherige Untersuchungen von Coxsackie B-Virusinfektio-

nen bei Mäusen gegeben werden.

3.2.1.1 Coxsackie B-Virus-Charakteristik

Coxsackie B-Viren gehören zu der Familie der Picornaviren, die sich aufgliedert in Enteroviren (Poliomyelitisviren, Coxsackie A und B, Echoviren), Rhinoviren, Enzephalomyokarditis-Viren und Maul- und Klauenseuche-Viren. Alle sind kleine RNA-Viren mit einem Durchmesser von 20-40nm, ohne Hülle und haben ein ikosaederförmiges Kapsid⁵⁰. Die Gruppe der Enteroviren verursachen nach oraler Aufnahme und Replikation im Gastrointestinaltrakt eine systemische Infektion. Da sie resistent gegen niedrige pH-Werte sind, werden sie von der Magensäure nicht inaktiviert. Der Infektionsmodus ist entweder fäkal-oral oder geht über den Respirationstrakt^{61,68}.

Die Vermehrung von Enteroviren in vielen Tierzelllinien ergibt innerhalb von 5-6 Stunden hohe Titer. Damit ein Zelfall überhaupt stattfinden kann, sind eine hohe Zahl von Viren (60-100) und spezielle Rezeptoren an der Zielzelle nötig, die sich einheitlich für alle Coxsackie B-Viren von denen für Poliomyelitisviren unterscheiden. Die Notwendigkeit dieser Rezeptoren ergibt möglicherweise den unterschiedlichen Organotropismus³⁷.

Nach erfolgter Adsorption an die Zelle, Abstreifen der Kapsidbemantelung und Penetration, tritt eine rasche Vermehrung infektiöser Einheiten auf. Diese Virusreplikation verläuft im Zytoplasma, wird von dem einzelstrangigen RNA-Genom gesteuert, das auch als messenger-RNA für die Proteinsynthese an den Ribosomen fungiert^{50,103}.

Die zelleigene DNA-, RNA- und Proteinsynthese wird durch die Virusproteinsynthese unterdrückt, zytopathische Effekte werden in Gewebekulturen wenige Stunden nach Infektion sichtbar. Zytolyse in Zellkulturen tritt dann ein, wenn ausgereifte Viruspartikel freigesetzt werden. Man nimmt deshalb an, daß Gewebeläsionen bei Enterovirusinfektionen durch direkte virusinduzierte Zytolyse bedingt sind. 50,103,61a

3.2.1.2 Virusreplikation, Entzündung, Abwehrmechanismen:

Coxsackie B-Viren vermehren sich und/oder verursachen entzündliche Läsionen im Herzen, Pankreas, Leber, Milz und Gehirn von verschiedenen Mäusestämmen 90,115,123,183. Ursprünglich meinte man, daß

Coxsackieviren, die von Menschen isoliert worden waren, nur pathogen für Säuglingsmäuse seien (jünger als 2 Wochen), 38,115, später konnten auch Infektionen bei heranwachsenden (2-3 Wochen) und erwachsenen Tieren (älter als 4 Wochen) durch verschiedenste Inokulationsarten ausgelöst werden 68,69,98,123,171.

Studien an älteren Tieren haben gezeigt, daß die parenterale Infektion mit Coxsackie B-Viren zu einer Virämie und dann zu einer weiteren Virusreplikation in den Zielorganen führt. Das virämische Stadium dauert bis zum dritten Tag 134. Die Virusvermehrung in den Zielorganen erreicht am 3.-4. Tag ihr Maximum 134,183. Danach werden die Abwehrmechanismen des Wirtsorganismus wirksam, die eine Abnahme der Virustiter und schließlich ein völliges Verschwinden der Viren aus dem Gewebe um den 10.-14. Tag bewirken 183.

Eine wesentliche Rolle bei der Hemmung des Viruswachstums scheinen nach neueren Erkenntnissen neutralisierende Antikörper und

entzündliche Rundzellinfiltrate zu spielen. Die Bedeutung des Interferons ist noch unklar, da einerseits durch experimentelle Maßnahmen, die eine Interferonproduktion auslösen, eine Cocksackie B-Erkrankung in einem frühen Infektionsstadium unterdrückt werden kann¹²⁶, andererseits diese Viren in vivo und in vitro nur schwache Interferoninduktoren sind¹⁴⁰. Neutralisierende Antikörper scheinen die wesentliche Rolle bei der primären Abwehr einer Cocksackievirus-Erkrankung zu spielen. Dafür spricht, daß Viren durch neutralisierende Antikörper in vitro sofort inaktiviert werden¹⁸⁴ und daß Antikörperübertragungen innerhalb von 24 Stunden nach Beimpfung eine Erkrankung bei Mäusen unterdrückt¹³⁶. Darüber hinaus korreliert die Kinetik der Antikörperproduktion mit den Virustitern im Blut und den Zielorganen. Ca. 5 Tage nach Infektion können neutralisierende Antikörper im Serum nachgewiesen werden¹⁸⁶, nach 7-8 Tagen ist ein hoher Antikörpertiter erreicht. Damit geht eine Beendigung der virämischen Phase¹³⁴ und eine Abnahme der Virustiter in den befallenen Organen einher¹⁸³. Die Produktion dieser Antikörper aus der IgM-Fraktion ist unabhängig von T-Lymphozyten, da Mäuse ohne T-Lymphozytenpopulation ebenfalls normale Antikörper entwickeln. Die Hemmung des Viruswachstums in den Organen wird jedoch nicht nur durch neutralisierende Antikörper bewirkt. Bei CD 1-Mäusen vermehren sich Viren im Herzen, Pankreas und der Leber, die Mäuse erholen sich jedoch wieder. Die Infektion verläuft jedoch tödlich, wenn Kortison zur Zeit der Virusinokulation gegeben wird. Man findet dabei sehr hohe persistierende Virustiter in den Organen, obwohl neutralisierende Antikörper rechtzeitig mit normalen Titern auftreten. Auffällig ist jedoch eine deutliche Reduktion von Entzündungszellen im Gewebe¹⁸⁶. Diese entzündlichen

Rundzellinfiltrate in den beteiligten Organen sind ein charakteristischer Bestandteil einer Coxsackie B-Virus-Erkrankung. Welche Zellpopulationen die wesentliche Abwehrfunktion erfüllt, ist noch unklar. T-Lymphocyten scheinen es nicht zu sein, da Mäuse, die mit Antithymozytenserum behandelt oder thymektomiert wurden, eine intakte Abwehrfunktion besitzen ¹⁸⁵.

Es gibt indirekte Hinweise, die es nahelegen, daß Makrophagen an der Unterdrückung der Virusreplikation beteiligt sind. 5-10 Tage nach Virusinfektion bestehen die entzündlichen Infiltrate in den Herzen der erkrankten Tiere vorwiegend aus Makrophagen ^{183,185}. Babymäuse, die gewöhnlich Coxsackie B-Erkrankungen mit tödlichem Ausgang erleiden, sind vor schwerer Erkrankung geschützt, wenn ihnen Makrophagen aus der Peritonealflüssigkeit erwachsener, nicht infizierter Tiere infundiert werden ¹³⁵. Ein unverdünntes Immunserum kann ebenfalls vor einer tödlichen Erkrankung schützen, verdünnte Antikörper sind jedoch nur dann wirksam, wenn sie zusammen mit den erwähnten Exsudatzellen gegeben werden ¹³⁵. Aufgrund dieser Untersuchungen wird angenommen, daß das Zusammenwirken von Makrophagen und neutralisierenden Antikörpern eine wesentliche Rolle bei der Limitierung des Viruswachstums in den befallenen Organen spielt.

3.2.1.3 Tierexperimentelle Virusmyokarditis - multifaktorielles Geschehen:

Die Entwicklung einer Myokarditis nach einer Coxsackie B-Virusinfektion hängt von folgenden Faktoren ab:

1. Organotropismus des Virus
2. Alter des Versuchstieres
3. Versuchstierstamm

Die Bedeutung der Punkte 1 und 2 konnten Grodums und Dempster durch Untersuchungen belegen, die zeigten, daß junge Albinomäuse nach Infektion mit Coxsackie B1-B5 eine schwere Enzephalitis entwickelten, jedoch nur Coxsackie B1 und B5 verursachten auch eine ausgedehnte Myokarditis. Coxsackie B3, der bei diesen Babymäusen eine nur geringe myokarditische Reaktion auslöste, hatte bei heranwachsenden und erwachsenen Tieren eine schwere Herzmuskelentzündung zur Folge. Alle 5 Typen vermochten bei erwachsenen Tieren eine Myokarditis auszulösen, wohingegen keine symptomatische Enzephalitis auftrat ^{67,69}.

Neben dieser wechselnden Organmanifestation der verschiedenen Virustypen konnten sogar unterschiedliche Organotropismen von differenten Stämmen eines Virustyps an ein und demselben Mäusestamm nachgewiesen werden ^{183,185}. Umgekehrt konnte ein Coxsackie B3-Virusstamm bei einem Mäusestamm (Erwachsene CD 1-Mäuse ¹⁸³) eine schwere Myokarditis auslösen, bei einem anderen Stamm war die Infektion folgenlos ⁶⁸.

Die meisten Untersuchungen hinsichtlich der histologischen Veränderungen am Herzen bei einer Coxsackie B-Infektion sind an

heranwachsenden und ausgewachsenen Mäusen durchgeführt worden. Bei erwachsenen Tieren heilt die Myokarditis gewöhnlich aus. Die ersten degenerativen Veränderungen sind ungefähr am dritten Tag der Infektion angeschwellene und hypereosinophile Myokardfasern. Ab Tag 5 finden sich fokale und diffuse Lymphozyten- und Makrophageninfiltrate, die charakteristischerweise um teilnekrotische Fasern angeordnet sind.^{68,98,183} Diese Entzündungszeichen gehen innerhalb von 2 Wochen fast vollständig zurück. Als Folgezustand resultieren interstitielle Fibrose und gelegentlich fokale Verkalkung. Im Gegensatz hierzu kann bei jüngeren Tieren die entzündliche Herzmuskelerkrankung einen chronischen Verlauf annehmen^{49,179}. Wochen und Monate kann die Entzündung persistieren, obwohl eine Virusisolierung aus dem Gewebe schon nach einer Woche nicht mehr gelingt und in manchen Myokardarealen Zeichen einer Ausheilung vorliegen.

3.2.1.4 Pathomechanismen bei Virusmyokarditis:

Aufgrund experimenteller Studien muß man annehmen, daß mindestens 2 pathogenetische Ursachen zur Myokardfasernekrose bei Myokarditis führen.

- Direkte virusinduzierte Myokardfaserzerstörung:

Coxsackie B Viren vermehren sich in Zellkulturen und führen schließlich zu einer Zytolyse⁶⁻¹⁰. Virusreplikation erfolgt ebenfalls in Myokardzellkulturen von Mäusen, wenngleich hierbei Lyseerscheinungen innerhalb der ersten 21 Stunden nicht nachweisbar sind⁹¹. Dennoch spricht vieles dafür, daß Coxsackieviren zumindest in vivo eine Zytolyse von Myokardzellen verursachen. Vereinzelt, teilweise nekrotische

Myokardfasern treten 3 Tage nach Infektion auf, entzündliche Infiltrate entstehen frühestens am 5. Tag, Myokardfasernekrosen am Höhepunkt der Erkrankung (7.-8. Tag) finden sich auch ohne begleitende Entzündungszellen. Ausgedehnte Fasernekrosen waren Folge einer immunsuppressiven Therapie, durch die entzündliche Infiltrationen weitgehend unterdrückt waren ^{85,186}. Damit korrelierte ein erhöhter und persistierender Virustiter im Myokardgewebe dieser Tiere.

- Zellvermittelte Myokardfasernekrose:

Ursprünglich war man der Meinung, daß lediglich die virusinduzierte Zytolyse für die Folgen einer Myokarditis verantwortlich ist. Erst die Erkenntnis, daß eine Coxsackie B-Infektion bei jungen Mäusen eine chronische Entzündung auslösen kann, ohne daß zu diesem Zeitpunkt noch Viren im Gewebe nachweisbar sind ¹⁷⁹, war Anlaß, nach einem weiteren pathogenetischen Prinzip zu suchen.

Erste Hinweise auf eine Beteiligung des Immunsystems, speziell der T-Lymphocyten ergaben sich aus Studien an heranwachsenden Tieren. Tiere, die mit Antithymozytenserum vorbehandelt wurden, entwickelten nach Coxsackie B3-Infektion keine adäquate Entzündungsreaktion. Das Ausmaß der entzündlichen Infiltration im Myokard war deutlich vermindert, ebenso zeigte sich eine signifikant geringere Myokardfasernekrose, obwohl die Virusreplikation, gemessen an den Gewebetitern im Vergleich zu unbehandelten Tieren, keinen Unterschied zeigte ¹⁸⁵. Bei thymektomierten Mäusen, die zusätzlich mit einer letalen Dosis ganzkörperbestrahlt wurden und anschließend Knochenmarkszellen infundiert bekamen, war die Entzündungs- und Nekrosereaktion auf Coxsackie B3-Infektion ebenfalls stark vermindert; auf eine zusätzliche Infusion von Thymuszellen hin ergab sich wieder ein "normaler" Entzündungsverlauf ¹⁸⁵.

Diese Untersuchungen weisen darauf hin, daß T-Lymphozyten eine wesentliche Bedeutung für die Entwicklung zellulärer Infiltrate und der Myokardfasernekrose haben. Es gibt verschiedene Theorien über die T-Lymphozytenfunktion:

1. T-Lymphocyten bewirken die Anhäufung aktivierter Makrophagen ⁴⁸.
2. T-Lymphocyten induzieren eine Antikörperproduktion, die für die anti-körperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität ¹³² oder für eine Zytolyse durch Antikörper und Komplement ¹²⁸ Voraussetzung ist.
3. T-Lymphocyten entwickeln selbst eine zytotoxische Wirkung.

Eine Vielzahl von Experimenten belegen das Vorkommen zytotoxischer T-Lymphocyten. Nach Infektion mit Coxsackie B3-Zellen konnten Zellen aus der Milz dieser Tiere gewonnen werden, die virusinfizierte Myokardzellen und Fibroblasten in vitro lysierten ^{78,182}. Dabei zeigte sich eine Virusspezifität, da nicht infizierte Zielzellen weit weniger lysiert wurden. Diese Virusspezifität wurde ebenfalls ersichtlich aus weiteren Versuchen mit verschiedenen Virusarten, wobei nur jeweils die entsprechenden Zielzellen angegriffen wurden. Daß es sich bei diesen zytotoxischen Zellen um T-Lymphocyten handelt, legen Versuche nahe, bei denen diese Zytotoxizität durch Behandlung mit Antithymozytenserum sofort unterbunden wurde ¹⁸².

Wie diese Lymphocyten infizierte Myokardzellen erkennen, ist nicht geklärt. Man nimmt an, daß die Stimulierung der T-Lymphocyten nicht durch das Virion selbst erfolgt, sondern daß zelleigene Antigene durch die Infektion verändert werden bzw. neue virusinduzierte Antigene auf der Zellmembran entstehen ⁴³. Daß diese Membranantigene den Virus-kapsidantigenen gleichen, ist unwahrscheinlich, da weder durch Immun-

fluoreszenz gebundene neutralisierende Antikörper auf der Zellmembran nachweisbar sind, noch durch diese Antikörper eine T-Zell-vermittelte Zytolyse im Experiment verhindert werden kann¹⁸².

- "Autoreaktive" zytotoxische Zellen:

Eine weitere experimentelle Entdeckung war, daß durch eine Coxsackie-virusinfektion auch Zellen induziert werden, die fähig sind, nicht infizierte Myokardfasern und Fibroblasten zu lysieren. Diese Zellen hatten keine Oberflächenantigene, die eine Zuordnung zu B- oder T-Lymphozyten ermöglicht hätten und waren auch keine Makrophagen, sondern entsprachen ihrer Charakteristik nach sog. Natural-Killer-Zellen¹⁸². Inwieweit diese Zellen eine Bedeutung für die chronische Verlaufsform einer Myokarditis haben, ist ebenfalls noch ungeklärt.

Die hier zusammengefaßten experimentellen Ergebnisse von Coxsackie B-Virusinfektionen bei Mäusen sollen einen Einblick in den heutigen Stand der Kenntnisse über den Ablauf einer Myokarditis und in die theoretischen Überlegungen zur Pathogenese dieser Erkrankung ermöglichen. Weitere Untersuchungen von an Myokarditis erkrankten Patienten ergaben Hinweise auf eine genetische Disposition (spezielle HLA Konstitution)¹⁸ und auf eine Veränderung des Immunsystems (reduzierte Suppressorzellaktivität⁴⁷. Naturgemäß bleiben jedoch noch viele Fragen hinsichtlich der Pathogenese und auch der frühen diagnostischen Möglichkeiten ungeklärt.

3.2.2. Untersuchungsergebnisse

3.2.2.1

a) Erregerauswahl

Multiple Vorversuche mit allen Cocksackie B-Typen (B1-B6) und Cocksackie A9 wurden durchgeführt mit dem Ziel, eine entzündliche Herzerkrankung bei Mäusen durch intraperitoneale Inokulation auszulösen. (61,157,178, 94,146,93,24,177,134,95) Durch Cocksackie A9 war lediglich bei einer Versuchsreihe eine Myositis nachweisbar, eine Herzmuskel-entzündung konnte durch keinen dieser experimentellen Ansätze erreicht werden. Die Gründe hierfür waren entweder eine fehlende Kardiotropie dieser Virusstämme oder eine Unempfindlichkeit des verwendeten Mäusestammes. Auf der Suche nach den entzündlichen Myokardveränderungen wurden Serienschnitte der Herzen dieser infizierten Tiere mit histologischer und immunfluoreszenzoptischer Methode untersucht 20,26,34,35,111,138,152, 158,188,20. Aufgrund dieser negativen Resultate wurde, Berichten von Hassan ^{70a} und Kundin ^{89a} folgend, eine neue Versuchsreihe mit Reovirus 1 begonnen. Dieses Virus hat ebenfalls die Fähigkeit, bei jungen Mäusen eine Myokarditis auszulösen, deren Verlauf einer Cocksackie B-Myokarditis sehr ähnlich ist.

b) Reoviruscharakteristik

Die Benennung der Reoviren entspricht einer Abkürzung für respiratory, enteric, orphan, da diese Gruppe von Viren im Respirations- und Verdauungstrakt gefunden werden. Ursprünglich wurden diese Viren zu den Echoviren gezählt, sie sind jedoch größer als die Picornaviren und be-

sitzen einen Durchmesser von 60-70nm. Ihre äußere Gestalt ist ikosaedrisch, das Kapsid ist doppelschichtig und besteht aus 92 Kapsomeren. Die RNA ist doppelsträngig, eine Lipoidhülle fehlt. Ähnlich den Enteroviren sind sie relativ hitze- und säureresistent. Auf Gewebekulturen menschlicher und tierischer Herkunft erzeugen Reoviren, die im Zytoplasma gebildet werden, ausgeprägte spezifische zytopathogene Effekte. Man kennt mindestens drei verschiedene Virustypen, die sich im Neutralisations- und Hämagglutinationshemmtest klar voneinander unterscheiden lassen, die aber andererseits ein gemeinsames Antigen besitzen, das in der Komplementbindungsreaktion die Typenspezifität überdeckt. Alle drei Reovirustypen sind weltweit verbreitet, der größte Teil der Bevölkerung ist damit durchseucht. Die Infektionen werden meistens symptomlos durchgemacht, gelegentlich treten Schnupfen, Pharyngitis sowie Durchfall und Erbrechen auf.

Die intraperitoneale Injektion von Reovirus 1 Typ Lang (10^7) an jungen Mäusen (max. 36h alt) führte zu einer entzündlichen Herzmuskerkrankung; die durch histologische und immunfluoreszenzoptische Untersuchungen nachweisbar war.

3.2.2.2 Morbidität und Mortalität:

An 50 Mäusen wurde in der Versuchsreihe der spontane Verlauf der Erkrankung bis zum 11. Tag postinfektionem untersucht. 7 Mäuse (14%) verstarben rasch (innerhalb der ersten 24 Stunden), sehr wahrscheinlich an den Folgen innerer Verletzungen, die durch die intraperitoneale Injektion verursacht wurden. Weitere 5 Mäuse (10%) starben zwischen dem 4. und 11. Tag nach Infektion, hierbei muß ein kausaler Zusammenhang zwischen der Infektion und der Todesursache angenommen werden. Die Herzen der verbliebenen 38 Tiere wurden am 11. Tag nach Infektion auf das Vorliegen einer

Myokarditis untersucht. Hierbei konnte bei 31 Tieren der immunfluoreszenz-optische Nachweis viralen Antigens im Myokard geführt werden. Betrachtet man nur die 38 Tiere, die bis zum 11. Tag überlebten und deren Herzen untersucht werden konnten, so ergibt sich eine Erkrankungsrate von über 80%.

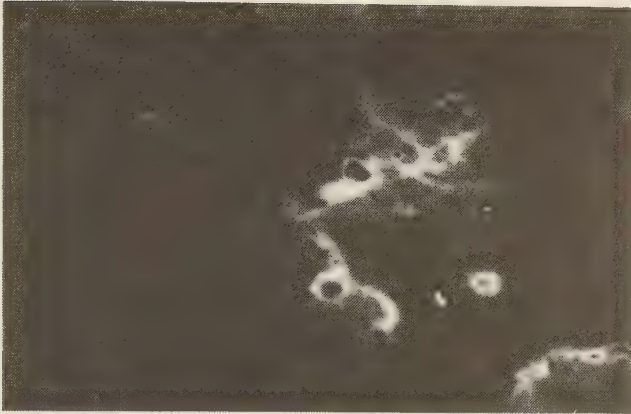
3.2.2.3 Äußere Erkrankungszeichen, Körper- und Herzgewicht:

Tiere, die mit Reovirus infiziert worden waren, zeigten im Vergleich zu den gesunden Kontrolltieren ab dem zweiten Tag der Erkrankung eine deutlich geringere körperliche Aktivität, Bewegungsstörungen und eine Verzögerung des Wachstums und der Reifung (Fellbildung). Diese äußerlichen Krankheitserscheinungen verloren sich langsam nach Ablauf der zweiten Erkrankungswoche.

Zur Frage nach akuter kardialer Dilatation und Herzgrößenzunahme der Myokarditis wurden Körpergewicht und Herzgewicht von infizierten Tieren mit einem gesunden Kontrollkollektiv verglichen und ein Quotient aus diesen Werten bestimmt. Hierbei ergaben sich ein signifikant geringeres Körpergewicht, aber auch geringeres Herzgewicht der erkrankten Tiere, so daß der hieraus gebildete Quotient keinen Unterschied zeigte. Dieses Ergebnis bestätigt die schon bei Patienten getroffene Aussage, daß eine virale Herzmuskelentzündung zumindest im frühen akuten Stadium zu keiner wesentlichen kardialen Dilatation und Herzgewichtszunahme führt.

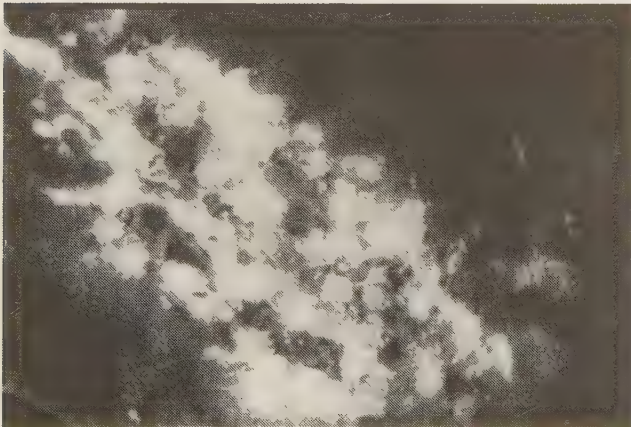
3.2.2.4 Makroskopische Herzveränderungen:

Herzen erkrankter Tiere zeigten ab Tag 2-3 nach Infektion eine Abblassung ihrer normalerweise braunrötlichen Färbung und eine Veränderung ihrer Konsistenz. Sie fühlten sich deutlich weicher, fast sulzig an, was



Positive Immunfluoreszenz - 4. Tag nach Infektion mit Reovirus 1.

Dargestellt ist ein fokaler Herd mit viralem Antigen in wenigen Myokardzellen (Vergrößerung 1:400; Auflichtfluoreszenz).



Positive Immunfluoreszenz - 9. Tag nach Infektion mit Reovirus 1.

Dargestellt ist ein großes Zellareal mit intrazellulärem Antigen (Vergrößerung 1:400; Auflichtimmunfluoreszenz).

wohl auf ein interstitielle Ödem zurückzuführen ist. Ab Tag 8-9 fanden sich bei ca. der Hälfte der Herzen weißliche, spritzerartige epikardiale Auflagerungen (beginnende Verkalkung infizierter Myokardareale), gelegentlich auch blutige Bezirke, die als Folge einer hämorrhagischen Perikarditis anzusehen sind. Perikardergüsse konnten aufgrund der schwierigen Präparation bei diesen kleinen Tieren nicht nachgewiesen werden. Das Lungengewebe war häufig ebenfalls ödematös, selten auch blutig durchtränkt, entsprechend kardialer Stauung und Viruspneumonie.

3.2.2.5 Mikroskopische Veränderungen:

a) Immunfluoreszenz:

Am Tag 1 und 2 nach Infektion war immunfluoreszenzoptisch kein Virusantigen im Myokardgewebe nachweisbar. Ab Tag 3 traten erstmals kleine einzelne Herde mit zytoplasmatisch positiver Immunfluoreszenz auf, die sich zu diesem frühen Zeitpunkt aus jeweils nur wenigen Zellen (2-5) zusammensetzt. Die einzelnen Zellen leuchten zudem nur teilweise, das Immunfluoreszenzmuster war teils diffus teils granulär. Zwischen Tag 4 und 9 kam es zu einer deutlichen Zunahme der Befunde, sowohl bezüglich der Ausdehnung und Zahl dieser Herde, als auch der Intensität der immunfluoreszenzoptischen Anfärbung, die am Höhepunkt der Infektion (ca. 8.-9. Tag) die einzelnen Myokardzellen vollständig ausfüllte. Diese helleuchtende diffuse Immunfluoreszenz mit teilweise granulärer Betonung ging im weiteren Verlauf (zwischen Tag 10-14) wieder zurück, so daß zuletzt nur mehr kleine fleckige Stellen in oft relativ großen Infektionsarealen übrigblieben, deren Ausdehnung daran erkannt werden konnte, daß in diesen Bezirken die sonst übliche geringe Grundaktivität, die auch an nicht infizierten Zellen auftritt, wegfiel, was histologisch einer völligen Auflösung dieser in-

fizierten Zellen entsprach. Ab Tag 15 war immunfluoreszenzoptisch kein Virusantigen mehr auffindbar, "schwarze Löcher" im Myokard kennzeichneten die abgelaufene Infektion (Abb. 3.11.).

b) Histologie:

Die histologische Untersuchung der Herzen ergab folgenden Entzündungsverlauf:

- Tag 1 bis Tag 3: Verlust der Querstreifung und Hypereosinophilie der einzelnen Myokardfasern.
- Tag 3 bis Tag 9: Weitere Zunahme der Hypereosinophilie, Myokardfaser-schwellung, teilweise Fasernekrose und -aufsplitterung, ab ca. 6. Tag Rundzellinfiltrate und Granulozyteneinwanderung.
- Tag 9 bis Tag 14: Fasernekrose, "Verdämmern der Zellen", fleckige und diffuse entzündliche Infiltrate, gelegentlich Verkalkung von nicht lysierten Myokardzellen.

3.2.2.6 Isometrische Kontraktion bei experimenteller Herzmuskel- erkrankung:

Zur Klärung der Frage nach der Auswirkung viraler Replikation im Myokard während der frühen Entzündungsphase auf die kardiale Kontraktionskraft wurden isometrische Messungen an linksventrikulären Myokardstreifenpräparaten durchgeführt. Selbstverständlich zeigten die einzelnen Präparate, möglicherweise präparationsbedingt, eine sehr unterschiedliche isometrische Kraftentwicklung, deren durchschnittlicher Wert bei dem gesunden Kontrollkollektiv sogar geringfügig unter dem Wert der infizierten

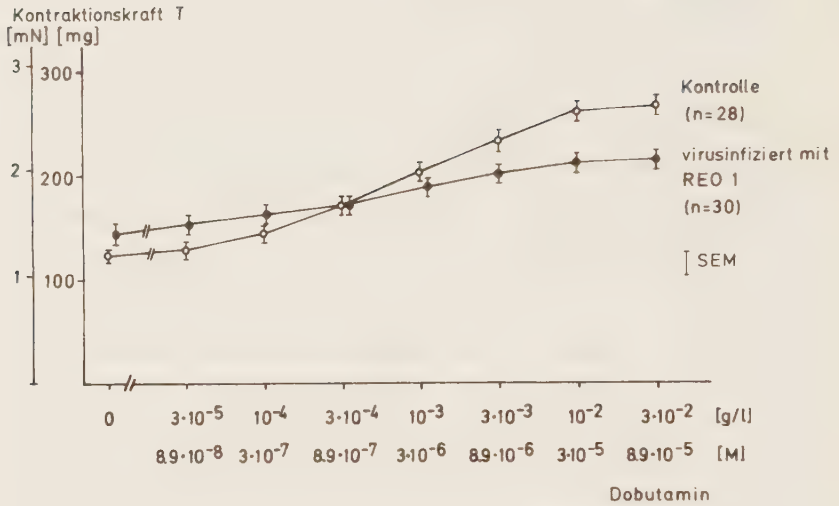


Abb. 3.12. Tierexperimentelle Virusmyokarditis - Zunahme der Kontraktionskraft unter positiv inotroper Stimulation.

Die Abbildung zeigt die Änderung der Kontraktionskraft der Muskelstreifenpräparate von gesunden und virusinfizierten Tieren bei positiv inotroper Stimulation mit steigenden Dosen von Dobutamin. Es ergibt sich eine signifikant geringere Kraftzunahme der infizierten Myokardstreifenpräparate.

Kraftzunahme

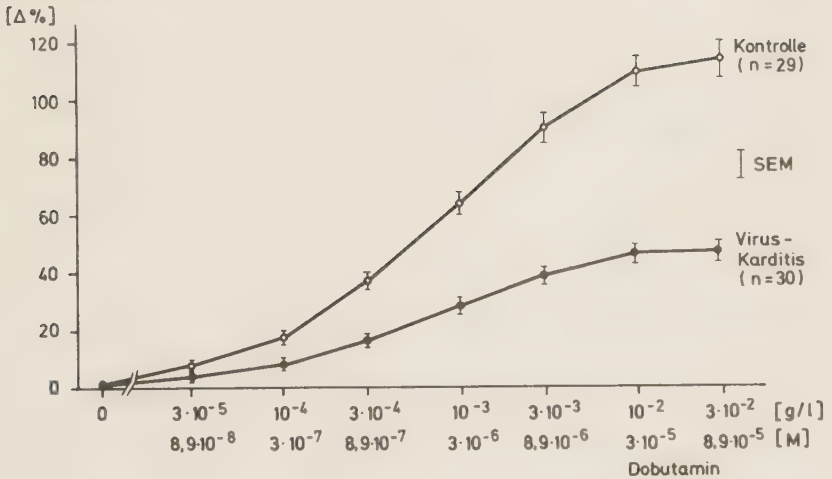


Abb. 3.13. Tierexperimentelle Virusmyokarditis - Zunahme der Kontraktionskraft unter positiv inotroper Stimulation (prozentuale Darstellung)

Die Abbildung gibt die relative Zunahme der Kontraktionskraft bei positiver inotroper Stimulation im Vergleich zu den Werten ohne Dobutamin wieder (prozentuale Steigerung).

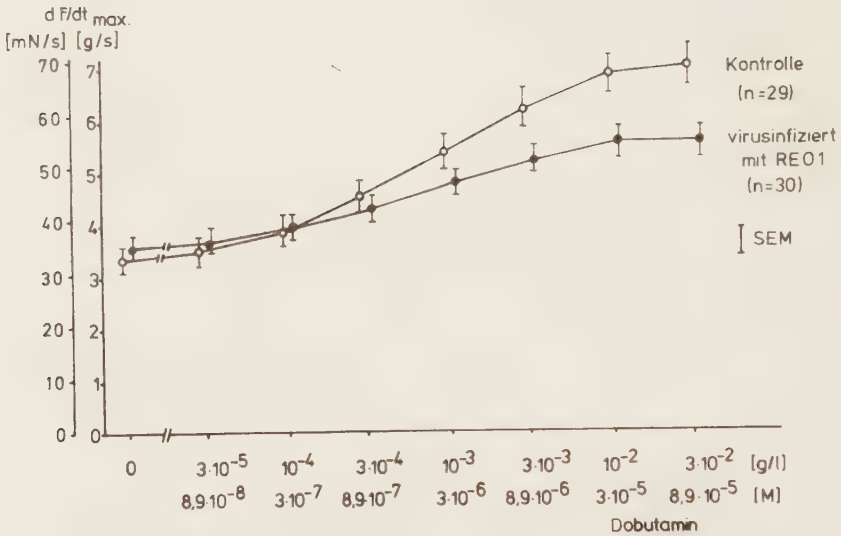


Abb. 3.14. Tierexperimentelle Virusmyokarditis - Änderung der Kraftanstiegsgeschwindigkeit bei positiv inotroper Stimulation.

Die Abbildung gibt die absolut gemessenen Werte der Kraftanstiegsgeschwindigkeit des Kontrollkollektives und des virusinfizierten (Reovirus 1) Kollektives wieder.

Bei steigender Konzentration von Dobutamin (positiv inotrope Stimulation) zeigt sich ein signifikanter Unterschied der maximalen Kraftanstiegsgeschwindigkeit zwischen gesunden und virusinfizierten Herzmuskelpräparaten.

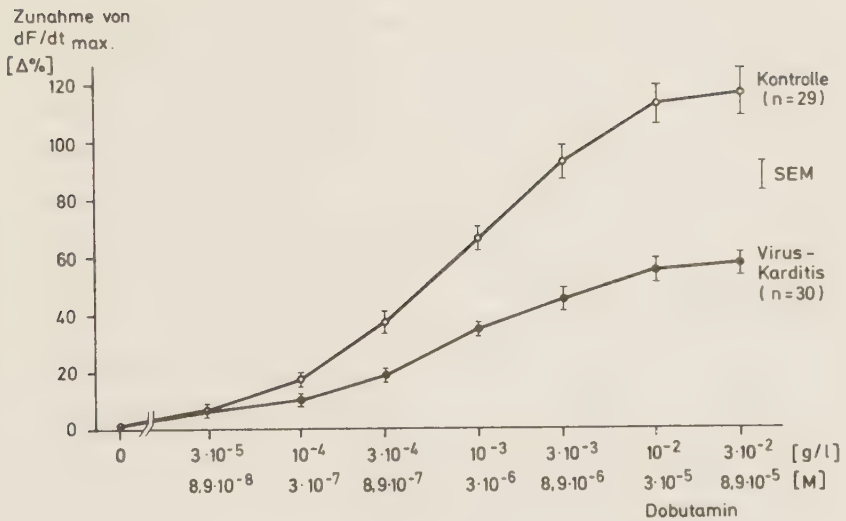


Abb. 3.15. Tierexperimentelle Virusmyokarditis -
Kraftanstiegsgeschwindigkeit (prozentuale Darstellung).

Die Abbildung gibt die relative (prozentuale) Zunahme der Kraftanstiegsgeschwindigkeit beider Kollektive im Vergleich zu den Ausgangswerten (ohne Dobutamin) wieder.

Es zeigt sich die deutliche Einschränkung der Kraftanstiegsgeschwindigkeitsreserve des virusinfizierten Kollektives.

Herzen lag. Deshalb wurde zur weiteren Differenzierung eine positiv inotrope Stimulation mit steigenden Dosen von Dobutamin angewendet, durch die eine eventuelle Einbuße der max. Kraftreserve kenntlich gemacht werden sollte. Tatsächlich ergab sich hierbei ein deutlich geringerer Anstieg der maximalen isometrischen Kraftentwicklung und der myokardialen Kraftanstiegsgeschwindigkeit der infizierten Myokardstreifen, der nicht nur zu einem hochsignifikanten Unterschied der relativen Zunahme, sondern auch zu einem signifikanten Unterschied der absolut gemessenen Werte bei hoher Dobutaminkonzentration führte (Abb. 3.12.; 3.13.; 3.14.; 3.15.). Dies bedeutet, daß die maximale Kontraktionsreserve die durch Dobutaminstimulation zu erreichen war, bei infizierten Herzen im Vergleich zu einem gesunden Kontrollkollektiv deutlich eingeschränkt ist. Nach Abschluß der Kontraktionsmessung wurde jedes Präparat immunfluoreszenzoptisch untersucht. Hierbei korrelierte diese Krafteinbuße streng mit dem immunfluoreszenzoptischen Nachweis von Viruskapsidantigen im Myokardgewebe. Damit konnte der Nachweis erbracht werden, daß bei tierexperimenteller Myokarditis schon in einem sehr frühen Entzündungsstadium (intrazellulärer Viruskapsidnachweis) eine Beeinträchtigung der kardialen Funktion auftritt.

3.2.3. Besprechung

3.2.3.1 Erregerauswahl, Organotropismus, Morbidität, Mortalität:

Zahlreiche tierexperimentelle Studien an Mäusen verschiedenen Alters wurden durchgeführt, mit dem Ziel, durch Injektion von Coxsackieviren, vorwiegend B3^{58,67,68,78,86,107,134,167,179} und A9^{57,93,94,95,170,177,178,179} sowie Enzephalomyokarditisviren¹⁰⁸ und Reoviren^{70a,89a}. Pathogenese, Verlauf und Folgen einer Virus-myokarditis aufzuklären. Für die hier dargestellten Tierexperimente wurde

Reovirus 1 Typ Lang gewählt, da dieses Virus pathogen (kardiotrop) für die verwendeten Versuchstiere war und den Vorteil bot, eine nur geringe Humanpathogenität zu besitzen.

Die Inokulation von Reovirus 1 Typ Lang führt bei jungen Mäusen (bis max. 3 Tage alt) innerhalb weniger Stunden zur virämischen Phase, schon 1 Tag nach Infektion kann fast aus allen Körpergeweben Virus gezüchtet werden, was einer schon ablaufenden Virusreplikation in den Zielorganen entspricht^{89a}. Die maximalen Virustiter werden zwischen dem 3. und 9. Tag in Fett, Leber, Pankreas, Drüsen, Milz und Herzen angetroffen. Eine Herzmuskelbeteiligung konnte bei 80% (eigene Untersuchungen) bis 100%^{89a} aller infizierter Tiere nachgewiesen werden. Die Zahl der Todesfälle, die mutmaßlich auf die Viruserkrankung zurückzuführen ist, scheint sehr unterschiedlich (0%⁸⁹, 10% eigene Untersuchung, 100%^{70a}), wie auch bei Coxsackievirus-Infektion, bei der die Mortalität bis zu 100% betragen kann (Coxsackie A9⁹⁴, Coxsackie B3¹³⁴).

Die äußeren Erkrankungszeichen sind die Folge der systemischen Infektion mit Beteiligung des Gehirns. Sie gehen mit dem Ende der Virusreplikation in dem befallenen Organ zurück. 3 Wochen nach Infektion erscheinen die erkrankten Tiere im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren völlig unauffällig, obwohl in manchen Geweben, vorwiegend mit hohem Bindegewebsanteil noch nachweisbare Virustiter vorliegen^{89a}.

3.2.3.2 Herz-Körpergewicht-Relation:

Zur Frage der akuten kardialen Dilatation konnte Matsumori in einem tierexperimentellen Modell mit Enzephalomyokarditisviren den Nachweis führen, daß schon am 5. Tag nach Infektion eine deutliche Dilatation sowohl des rechten als auch des linken Ventrikels auftritt. Damit war, im

Gegensatz zu eigenen Untersuchungen, eine Erhöhung des Herzgewichtes bei andererseits vermindertem Körpergewicht verbunden, was eine signifikante Zunahme des Herz/Körpergewichts-Quotienten bewirkte¹⁰⁸. Weitere Verlaufsbeobachtungen bis zum Tag 90 ergaben die gleichen Unterschiede, so daß diese tierexperimentelle Studie als Modell einer kongestiven Kardiomyopathie angesehen wird^{108a}.

Zu einem ähnlichen Ergebnis kommt Wilson¹⁷⁷, der vom 9. bis 27. Tag einer Coxsackie B3-Infektion einen erhöhten Herz-Körpergewicht-Quotienten feststellte, wohingegen Frederici⁵⁷ bei einer Coxsackie A9-Infektion keinen signifikanten Unterschied finden konnte.

Ob diese abweichenden Ergebnisse auf die Wahl eines anderen Virustyps oder auf das unterschiedliche Versuchstieralter zurückzuführen sind, bleibt unklar.

3.2.3.3 Makroskopische und mikroskopische Herzveränderungen:

Die im Rahmen einer viralen Herzmuskelerkrankung auftretenden makroskopischen und mikroskopischen Veränderungen sind bei allen mitgeteilten experimentellen Studien mit verschiedenen Virustypen sehr ähnlich.

- Makroskopie:

Die am Herzen äußerlich erkennbaren Folgen einer Virusinfektion haben eine sehr unterschiedliche Ausprägung. Sie reichen von völliger Unauffälligkeit^{57,179} über eine stellenweise Abblassung und weißlich-gelbe Auflagerungen^{67,107,108,170} bis zu einer grau-gelben Sprenkelung der gesamten Ventrikeloberfläche^{70a}. Diese Veränderungen sind Ausdruck einer Perikarditis bzw. Perimyokarditis, eine differenzierte Zuordnung zu bestimmten Virustypen kann aufgrund der mitgeteilten Beobachtungen nicht gemacht werden. Wie auch bei der In-

tensität der histologischen Ausprägung scheint hierbei die Wahl des Virusstammes (unterschiedliche Organotropie) und des Versuchstierstammes eine wesentliche Rolle zu spielen.

- Mikroskopie:

Immunfluoreszenz:

Die Methode, durch immunfluoreszenzmarkierte Antikörper gewebsgebundenes Antigen darzustellen, wurde erstmals von Coons 1950 vorgestellt³⁵. In der Folge erlangte sie gerade auf dem Gebiet virologischer Arbeitsmethoden zum Nachweis viralen Antigens in Zellkulturen und Gewebeschnitten^{111,158,188}, sowie bei der Virusidentifizierung und Typisierung^{188,34,20,152,138} eine große Bedeutung. Mit Hilfe dieser Technik wurde das Auftreten und die Verteilung von Virusantigenen im Verlauf einer Myokarditis in menschlichem Sektionsgut²⁷ und durch tierexperimentelle Studien^{70a,89a,134,167} wiederholt untersucht.

Zusammenfassend sind folgende Erkenntnisse von besonderer Bedeutung: Der frühest mögliche Zeitpunkt, virales Antigen in der Myokardzelle darzustellen, ist 48-72h nach Infektion, obwohl schon nach ca. 6-8h Virustiter im Gewebe meßbar sind⁹⁴. Eine Erklärung hierfür könnte die Tatsache darstellen, daß die verwendeten Testseren Antikörper gegen Viruskapsidproteine enthalten, deren Synthese in der befallenen Zelle erst nach der Virus-RNS-Replikationsphase erfolgt. Das typische Immunfluoreszenzmuster ist nicht vollständig homogen, sondern teils homogen/teils granulär, da beispielsweise durch Reoviren charakteristische Einschußkörperchen induziert werden, die Antigene

enthalten ¹¹¹. Das Maximum der Syntheseleistung wird zwischen dem 6. und 9. Tag erreicht, wodurch die Anfärbung der Zelle sehr homogen werden kann. Dies ist bedingt durch die Eigenschaft dieser Viren, erst in der Zelle zu akkumulieren, bevor eine Zytolyse eintritt. Intrazelluläres virales Antigen kann in der Regel nur bis Tag 13-14, maximal bis zum 21. Tag ¹⁶⁷ nachgewiesen werden. Dies bedeutet, daß während der maximalen Freisetzung von infektiösen Einheiten (Zytolysephase) durch Abwehrmechanismen ein Befall weiterer Zellen verhindert wird. Für diagnostische Belange bei menschlichen Erkrankungen ergibt sich hieraus die Notwendigkeit eines sehr frühen Biopsietermins. Aufgrund der Immunfluoreszenzverteilung muß man annehmen, daß zumindest die akute Myokarditis fokal an mehreren Stellen im Herzen abläuft und somit kein diffuses Geschehen darstellt. Dies könnte jedoch durch sekundäre Pathomechanismen (immunologische Vorgänge) induziert werden.

- Histologie:

Der Ablauf histologischer Veränderungen bei experimenteller Virusmyokarditis ist für alle verwendeten Virusarten sehr ähnlich. Hyper-eosinophilie und Verlust der Querstreifung einzelner Fasern, Faser-Hypertrophie und Kernveränderungen (Kernpyknose, Karyorrhexis) in einer frühen Entzündungsphase, im weiteren Verlauf (5.-10. Tag) Auftreten zellulärer Infiltrate (Lymphozyten, Histiozyten, Makrophagen, Plasmazellen, polymorphkernige Leukozyten), sowie Fasersplitterung, teilweise Fasernekrose oder vollständige Faserauflösung, oder auch Faserverkalkung, später Rückgang der entzündlichen Infiltrate und Ausbildung von teils diffuser, teils fleckiger interstitieller Fibrose ^{57,86,94,178,179}. Bemerkenswert sind hierbei die von Matsumori mitgeteilten Verlaufsbeobachtungen. Er konnte am Tag 90 nach experimen-

Nachweis von Viruskapsid und Kollagen Typ I und III
bei akuter Virusmyokarditis

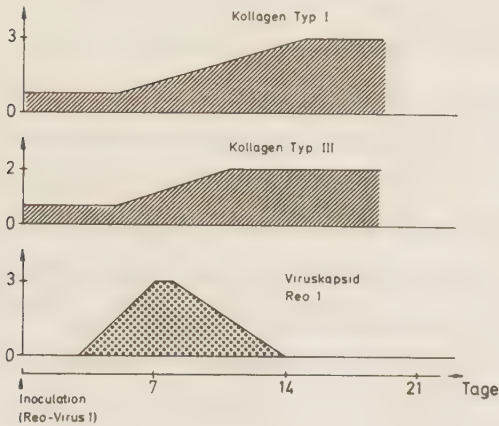


Abb. 3.11. Viruskapsidantigen- und Kollagenverteilung

Darstellung der Zunahme von Kollagen Typ I und Kollagen Typ III und des Nachweises von intrazellulärem Viruskapsid im zeitlichen Verlauf einer viralen Herzmuskelerkrankung.

Bemerkenswert ist das Zusammentreffen des intrazellulären Virusantigens (frühe Entwicklungsphase) mit einer in diesem Bereich auftretenden fokalen Kollagenvermehrung.

teller Myokarditis fleckige Fibrose und Myokardfaserhypertrophie ohne zelluläre Infiltrate an dilatierten Herzen nachweisen, Erscheinungen, die häufige Befunde von menschlichen Myokardbiopsien darstellen, wobei die Ätiologie der kardialen Erkrankung unbekannt ist.

Eine sehr frühe Induktion von Kollagenfaserbildung durch Viren konnte auch durch eigene experimentelle Untersuchungen in Zusammenarbeit mit Dr. Fischer (I. Med. Klinik, Klinikum Großhadern, Universität München) festgestellt werden (Abb. 3.11.). Schon häufig wurde die Vermutung ausgesprochen, daß eine dilativen Kardiomyopathie möglicherweise den Folgezustand einer abgelaufenen Myokarditis darstellt^{56,62}. Diese experimentellen Untersuchungen stellen somit den ersten Ansatz zur Klärung der Pathogenese dieses Krankheitsbildes dar.

3.2.3.4 Isometrische Kontraktion:

Durch Messung der isometrischen Kontraktion isolierter Papillarmuskeln von Katzen, Ratten oder Meerschweinchen wurde in der Vergangenheit vorwiegend die Wirkung von Medikamenten und Elektrolytveränderungen auf die myokardiale Kontraktilität untersucht^{150,151}. Wegweisend für diese Methode waren Arbeiten von Hill am Skelettmuskel^{75,76} und von Sonnenblick^{159,160,161} am isoliert-isotonisch kontrahierenden Katzenpapillarmuskel. Dabei gilt, daß eine diastolische Dehnung des Muskels, d.h. eine Erhöhung der initialen Faserlänge, eine Kurvenverschiebung im Kraft-Geschwindigkeitsdiagramm nach rechts bewirkt. Die maximale, unter rein isometrischen Bedingungen entwickelte Kraft steigt an. Dennoch ergibt die Extrapolation der Kurven auf der Geschwindigkeitsachse identische Werte. Dies bedeutet, daß die Verkürzungsgeschwindigkeit (V_{max}) bei der Belastung Null unabhängig von der Faserausgangslänge ist. Prinzipiell anders ist die Dynamik des isolierten Papillarmuskels, wenn

der Nährflüssigkeit positiv inotrope, d.h. kontraktilitätssteigernde Substanzen zugegeben werden. Unter dieser Stimulation kommt es ebenfalls zu einer Kurvenverlagerung nach rechts im Kraft-Geschwindigkeit-Diagramm, wobei nun aber auch die extrapolierte V_{max} einen Anstieg zeigt. Aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß die extrapolierte V_{max} das entscheidende Maß für die Beurteilung des kontraktiven Myokardzustandes darstellt. Da sich die Verkürzungsgeschwindigkeit der kontraktiven Elemente dl/dt als Quotient aus Spannungsanstiegsgeschwindigkeit dT/dt und einem dem Meßsystem eigenen Elastizitätsmodul dT/dl berechnet, repräsentiert somit die max. Kraftanstiegsgeschwindigkeit (Spannungsanstiegsgeschwindigkeit) den Zustand der myokardialen Kontraktilität.

Nur wenige kardiale Erkrankungen, wie beispielsweise die alkoholische Kardiomyopathie¹⁶⁸ lassen sich im Tierexperiment nachvollziehen, so daß über isometrische Messungen an krankheitsgeschädigten Papillarmuskeln kaum Mitteilungen vorliegen. Tierexperimentelle Studien zum Thema der Viruskarditis konzentrieren sich vorwiegend auf das Mäusemodell, weshalb hämodynamische bzw. isometrische Messungen wegen der geringen Größe der Herzen nicht durchgeführt wurden. Deshalb wurde der Versuch unternommen, durch geeignete Präparation von linksventrikulären Myokardstreifen ein dem Papillarmuskel ähnliches Modell zu entwickeln, das die Wirkung der viralen Replikation auf die Kontraktionskraft aufzeigen sollte. Tatsächlich konnte damit zum ersten Mal eine signifikante Reduktion der myokardialen Kontraktionskraftreserve in einem so frühen Endzündungsstadium nachgewiesen werden. Bemerkenswert ist dabei, daß diese Krafteinbuße streng mit dem Nachweis viralen Antigens im Myokardgewebe korrelierte.

Zu einem wesentlich späteren Untersuchungszeitpunkt konnte Abelmann

durch isometrische Kontraktionsmessung an isolierter Trabekelmuskulatur von mit Coxsackievirus 3[~]infizierten Goldhamstern ebenfalls eine reduzierte Kontraktionskraft messen. In dieser Studie zeigten infiziertes Herzgewebe am Tag 18 und Tag 90 einen signifikanten Unterschied, am 180 nach Infektion war dies nicht mehr nachweisbar.

Faßt man diese Ergebnisse zusammen, so führt schon die Virusvermehrung in der Zelle durch Umstellung des Zellstoffwechsels und des Energieverbrauches zu einem Zusammenbruch der kontraktile Funktion. Myokardfasernekrose, Ausbildung von interstitieller Fibrose und möglicherweise chronisch verlaufende immunologisch bedingte Entzündungsvorgänge mögen in einem Zwischenstadium für eine anhaltende Kontraktionsstörung verantwortlich sein. Ist die Entzündung ausgeheilt, kann durch kompensatorische Vorgänge (Einzelfaserhypertropie) eine völlige Normalisierung der Myokardfunktion eintreten.

3.2.4. Zusammenfassung der tierexperimentellen Untersuchungsergebnisse:

Im tierexperimentellen Teil der Arbeit wurden Untersuchungsergebnisse zur Pathogenese und dem Verlauf einer Virusmyokarditis wiedergegeben und ein eigenes Modell einer experimentellen Herzmuskelentzündung vorgestellt. Dabei konnte durch Inokulation von Reovirus 1 Typ Lang an Säuglingsmäusen eine Virusmyokarditis ausgelöst werden.

Mit Hilfe eines immunfluoreszenzoptischen Nachweisverfahrens (indirekter Immunfluoreszenztest) gelang der direkte Nachweis von Virusantigen im Myokardgewebe.

In einer weiteren Versuchsserien wurde die Auswirkung einer Virusinfektion (frühe Phase, intrazellulärer Virusantigennachweis) auf

die Kontraktionskraft linksventrikulärer Myokardstreifen untersucht. Dabei korrelierte eine deutliche Einschränkung der myokardialen Kraftreserve mit dem immunfluoreszenzoptischen Nachweis viralen Antigens im Herzmuskelgewebe.

Im einzelnen ergaben sich folgende eigene tierexperimentelle Untersuchungsbefunde:

- 1) Die Erkrankungsrate bei diesem Tiermodell beträgt über 80%, die erkrankungsbedingte Mortalität ist mit 10% relativ niedrig. Weitere 10-15% der Tiere versterben an den Folgen der Inokulationsmaßnahmen.
- 2) Die Infektion führt zu einer deutlich geringeren körperlichen Aktivität, zu Koordinationsstörungen und zu einer Verzögerung des Wachstums und der Reifung. Herz und Körpergewicht zeigen Verringerungen im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren. Der Quotient aus Herz- und Körpergewicht bleibt jedoch gleich.
- 3) Makroskopisch lassen sich am Herzen in über 50% epikardiale Verkalkungsherde erkennen, die Konsistenz des Myokardgewebes ist verändert (Erweichung). Das Lungengewebe ist häufig ödematös, selten blutig durchtränkt.
- 4) Der immunfluoreszenzoptische Nachweis viralen Antigens in einzelnen Herzmuskelzellen gelingt erstmals am 3. Tag nach Infektion. Das Antigenmaximum wird zwischen dem 6. und 9. Tag erreicht. Das Immunfluoreszenzmuster ist hierbei teils cytoplasmatisch diffus, teils granulär. Am 14. bis 15. Tag nach Infektion ist kein Virusantigen im Gewebe mehr auffindbar. Die abgelaufene Infektion ist jedoch weiterhin an lysierten Myokardarealen erkennbar.

- 5) Die histologische Begutachtung ergibt Verlust der Querstreifung und Hypereosinophilie einzelner Myokardfasern, im weiteren Verlauf Faserschwellung, teilweise Nekrose und Splitterung. Hinzu kommen Rundzellinfiltrate und Granulozyteneinwanderung. Schließlich treten Fasernekrose und gelegentlich Faserverkalkung sowie teils fleckige, teils diffuse interstitielle Fibrosebildung auf.
- 6) Der Nachweis von Virus-Antigen im Myokardgewebe korreliert mit einer Reduktion der maximalen Kraft (21%) und der maximalen Kraftanstiegsgeschwindigkeit (20%). Die relative Kraftzunahme im Vergleich zu den Ausgangswerten ohne positiv inotrope Stimulation war um 59%, die relative Zunahme der Kraftanstiegsgeschwindigkeit um 51% reduziert.

4. Zusammenfassende Schlußfolgerungen

Zahlreiche klinischen Beobachtungen sowie pathologisch-anatomische Untersuchungen bei dilativen Herzmuskelerkrankungen legen die Vermutung nahe, daß beide Erkrankungen unterschiedliche Verlaufsstadien der gleichen zugrunde liegenden Krankheit sind.

Zur Durchführung von Verlaufsstudien mit dem Ziel einer medikamentösen Beeinflussung des Krankheitsbildes ist es unerlässlich, verbindliche diagnostische Kriterien zu gewinnen und darüber hinaus ein vertieftes Verständnis für die Pathogenese der viralen Herzerkrankung zu erarbeiten. Diesen beiden Zielen sollte die vorliegende Arbeit dienen.

Die wichtigsten Schlußfolgerungen aus den klinischen Erhebungen sind folgende:

1. Eine Virusmyokarditis kann als erwiesen angesehen werden, wenn folgende Merkmalgruppen im Sinne eines Syndroms inzidieren:
 - a) Allgemeine Zeichen: Plötzlicher Beginn einer kardialen Funktionsstörung mit Herzinsuffizienz-Symptomatologie und/oder Herzrhythmusstörung, Nasen-Rachen-Infekt oder gastroenteritische Zeichen, beginnend etwa 8 Tage zuvor, verbunden mit dem Auftreten humoraler Entzündungszeichen.
 - b) Regionale Motilitätsstörungen der Ventrikelwand (Echokardiographie, Ventrikulographie) nach Ausschluß anderer Herzerkrankungen und Herzklappenfehler.

- c) Nachweis von Zeichen einer Myokarditis in der Myokardbiopsie (Einzelnekrosen, herdförmig vermehrte mononukleäre Zellen, herdförmige Fibrose).
- d) Nachweis einer Titerbewegung im Neutralisationstest an Hand serologisch-virologischer Untersuchungen.

Die wichtigsten Schlußfolgerungen der tierexperimentellen Studien sind folgende:

1. Mit Hilfe eines indirekten Immunfluoreszenztestes (Doppelsandwichtechnik) läßt sich virales Kapsid im Myokardgewebe nachweisen. Der Nachweis von viralem Kapsid in der Herzmuskulatur ist bei experimenteller viraler Herzerkrankung in Form einer herdförmigen Anordnung im Myokard erkennbar.
2. In enger Beziehung zum Nachweis von viralem Kapsid ist das Auftreten von Kollagen III und Kollagen I in den gleichen anatomischen Regionen zu beobachten.
3. Unter dem Einfluß einer Viruserkrankung des Myokards kommt es im Experiment zu einer verminderten Ansprechbarkeit auf Dobutamin, gemessen an isometrischen Kontraktionsgrößen. Nur dann ist eine verminderte Kraftentwicklung nachweisbar, wenn im Herzmuskel Viruskapsid-Immunfluoreszenz optisch nachweisbar war.

Zusammengekommen ergibt sich als allgemeine Schlußfolgerung aus den Untersuchungen, daß direkte schädigende Einflüsse auf das Myokard im Sinne einer Summation von Zellnekrosen durch die Virusinfektion festzustellen sind. Sie sind als Ursache einer verminderten Kraftentwicklung (Dobutamin) zu deuten. Unabhängig davon und wahrscheinlich im Gefolge sind, insbesondere aus den klinischen Untersuchungen, wichtige Hinweise für eine wahrscheinlich virusinduzierte Immunkrankheit gegeben, die sich als autoimmunologische Erkrankung an der Herzmuskulatur als Zielorgan entwickelt.

Isometrische Kontraktion - Kontrollgruppe (n=29) / Kraftentwicklung [mg] / [mN]

Dobutamin-Konzentration [g/l]		0	3 x 10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	3 x 10 ⁻⁴	10 ⁻³	3 x 10 ⁻³	10 ⁻²	3 x 10 ⁻²
Versuch	1	81.0	84.0	80.0	100.0	125.0	140.5	150.0	156.0
	2	75.0	81.0	88.5	109.0	128.0	146.5	165.5	165.5
	3	140.0	160.0	180.0	240.0	280.0	330.0	340.0	345.0
	4	145.0	170.0	170.0	190.0	210.0	240.0	310.0	320.0
	5	90.0	95.0	95.0	107.5	135.0	175.0	200.0	200.0
	6	180.0	220.0	235.0	250.0	270.0	300.0	335.0	335.0
	7	160.0	165.0	185.0	210.0	260.0	285.0	310.0	310.0
	8	105.0	105.0	105.0	115.0	155.0	180.0	210.0	250.0
	9	200.0	200.0	210.0	250.0	280.0	320.0	380.0	420.0
	10	78.0	86.0	100.0	118.5	143.5	165.5	181.0	187.5
	11	140.0	158.0	188.0	220.0	275.0	305.0	330.0	335.0
	12	115.0	125.0	140.0	175.0	220.0	270.0	310.0	330.0
	13	84.0	93.5	110.0	131.0	150.0	175.0	184.0	184.0
	14	160.0	180.0	190.0	220.0	260.0	300.0	340.0	340.0
	15	64.0	71.5	78.0	90.5	111.0	123.5	134.0	137.5
	16	160.0	180.0	190.0	220.0	250.0	285.0	305.0	305.0
	17	100.0	110.0	120.0	130.0	150.0	165.0	190.0	190.0
	18	110.0	115.0	120.0	135.0	170.0	210.0	235.0	235.0
	19	120.0	130.0	150.0	180.0	210.0	250.0	270.0	270.0
	20	160.0	160.0	175.0	210.0	255.0	300.0	330.0	330.0
	21	110.0	115.0	120.0	140.0	170.0	190.0	200.0	200.0
	22	81.0	81.0	92.5	115.5	168.5	225.0	250.0	250.0
	23	93.5	93.5	101.5	117.0	156.0	200.0	221.5	234.0
	24	100.0	105.0	120.0	150.0	175.0	200.0	210.0	210.0
	25	96.5	103.0	112.5	143.5	178.0	212.5	250.0	250.0
	26	140.0	160.0	180.0	200.0	240.0	270.0	300.0	300.0
	27	200.0	210.0	240.0	270.0	300.0	330.0	344.0	360.0
	28	150.0	160.0	160.0	170.0	200.0	230.0	260.0	270.0
	29	150.0	170.0	190.0	220.0	250.0	265.0	278.0	280.0
Mittelwert	[mg] [mN]	123.7 1.213	134.0 1.315	145.9 1.413	169.9 1.667	202.6 1.988	234.1 2.297	259.4 2.545	265.5 2.605
Standardabweichung ±		38.1	43.0	47.1	53.1	56.6	61.6	68.0	71.1
SEM ±	(Standard error of the mean)	7.1	8.0	8.7	9.9	10.5	11.4	12.6	13.2

Isometrische Kontraktion - Kontrollgruppe (n=29) / Kraftzunahme (prozentual zum 0-Wert)

Dobutamin-Konzentration [g/l]	0	3 x 10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	3 x 10 ⁻⁴	10 ⁻³	3 x 10 ⁻³	10 ⁻²	3 x 10 ⁻²
Versuch								
1	0	4	4	23	54	73	85	93
2	0	8	18	45	71	95	121	121
3	0	14	29	71	100	136	143	146
4	0	17	17	31	45	66	114	121
5	0	6	6	19	50	94	122	122
6	0	22	31	39	50	67	86	86
7	0	3	16	31	63	78	94	94
8	0	0	0	10	48	71	100	138
9	0	0	5	25	40	60	90	110
10	0	10	28	52	84	112	132	140
11	0	13	34	57	96	118	136	139
12	0	9	22	52	91	135	170	187
13	0	11	31	56	79	108	119	119
14	0	13	19	38	63	88	113	113
15	0	12	22	41	73	93	109	115
16	0	13	19	38	56	78	91	91
17	0	10	20	30	50	65	90	90
18	0	5	9	23	55	91	114	114
19	0	8	25	50	75	108	125	125
20	0	0	9	31	59	88	106	106
21	0	5	9	27	55	73	82	82
22	0	0	14	43	108	178	209	209
23	0	0	9	25	67	114	137	150
24	0	0	20	50	75	100	110	110
25	0	7	17	49	84	120	159	159
26	0	14	29	43	71	93	114	114
27	0	5	20	35	50	65	72	80
28	0	7	7	13	33	53	73	80
29	0	13	27	47	67	77	85	87
Mittelwert	0	8.1	17.8	37.7	65.9	93.0	113.8	118.7
Standardabweichung +	0	5.6	9.3	14.2	18.5	27.5	30.4	31.1
SEM +	0	1.0	1.7	2.6	3.4	5.1	5.7	5.8
(Standard error of the mean)								

Dobutamin-Konzentration [g/l]	0	3 x 10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	3 x 10 ⁻⁴	10 ⁻³	3 x 10 ⁻³	10 ⁻²	3 x 10 ⁻²
Versuch 1	75.0	75.0	80.0	87.5	107.5	115.0	125.0	125.0
2	75.0	80.0	85.0	92.5	105.0	120.0	135.0	135.0
3	150.0	160.0	170.0	190.0	210.0	225.0	230.0	230.0
4	130.0	135.0	145.0	160.0	185.0	195.0	205.0	205.0
5	164.0	171.5	176.5	187.5	206.0	212.5	234.0	234.0
6	150.0	150.0	150.0	160.0	180.0	190.0	195.0	200.0
7	40.0	40.0	40.0	45.0	55.0	65.0	72.5	75.0
8	140.0	145.0	147.0	160.0	180.0	200.0	220.0	225.0
9	87.5	93.5	100.0	112.5	134.0	143.5	159.0	159.0
10	100.0	100.0	100.0	110.0	135.0	155.0	155.0	160.0
11	110.0	115.0	125.0	135.0	150.0	160.0	170.0	170.0
12	106.0	118.5	125.0	125.0	131.0	137.5	143.5	143.5
13	220.0	240.0	240.0	240.0	250.0	260.0	260.0	270.0
14	160.0	160.0	175.0	195.0	215.0	235.0	250.0	250.0
15	180.0	180.0	180.0	190.0	200.0	210.0	225.0	227.0
16	210.0	270.0	280.0	285.0	290.0	310.0	330.0	330.0
17	180.0	180.0	180.0	180.0	185.0	190.0	195.0	200.0
18	171.5	171.5	187.5	203.0	234.0	250.0	257.5	257.5
19	240.0	240.0	240.0	250.0	255.0	260.0	270.0	270.0
20	185.0	210.0	210.0	210.0	215.0	225.0	240.0	240.0
21	160.0	165.0	170.0	180.0	197.0	210.0	225.0	225.0
22	195.0	203.0	210.5	226.5	250.0	281.0	284.0	284.0
23	205.0	210.0	225.0	240.0	270.0	300.0	305.0	305.0
24	200.0	200.0	210.0	230.0	260.0	280.0	290.0	290.0
25	210.0	235.0	240.0	250.0	275.0	300.0	320.0	320.0
26	100.0	112.5	118.5	125.0	131.0	143.5	153.0	153.0
27	140.0	140.0	140.0	145.0	153.0	170.0	190.0	190.0
28	56.0	59.0	59.0	68.5	87.5	93.5	100.0	100.0
29	150.0	150.0	158.0	170.0	200.0	225.0	240.0	240.0
30	125.0	127.0	135.0	145.0	160.0	175.0	175.0	175.0
Mittelwert [mg]	147.2	154.6	160.1	169.9	186.9	201.2	211.8	212.9
	1.444	1.517	1.571	1.667	1.833	1.974	2.078	2.089
Standardabweichung ±	51.6	56.9	57.9	58.6	59.8	63.5	64.7	64.6
SEM ±	9.4	10.4	10.6	10.7	10.9	11.6	11.8	11.8
(Standard error of the mean)								

Isometrische Kontraktion - Viruskollektiv (n=30) / Kraftzunahme (prozentual zum 0-Wert)

Dobutamin-Konzentration (g/l)	0	3×10^{-5}	10^{-4}	3×10^{-4}	10^{-3}	3×10^{-3}	10^{-2}	3×10^{-2}
Versuch	1	0	0	17	43	53	67	67
	2	0	7	23	40	60	80	80
	3	0	13	27	40	50	53	53
	4	0	12	23	42	50	58	58
	5	0	8	14	26	30	43	43
	6	0	0	7	20	27	30	33
	7	0	0	13	38	63	81	88
	8	0	4	14	29	43	57	61
	9	0	14	29	53	64	82	82
	10	0	0	10	35	55	55	60
	11	0	14	23	36	45	55	55
	12	0	18	18	24	30	35	35
	13	0	9	9	14	18	18	23
	14	0	9	22	34	47	56	56
	15	0	0	6	11	17	25	26
	16	0	29	36	38	48	57	57
	17	0	0	0	3	6	8	11
	18	0	0	18	36	46	50	50
	19	0	0	4	6	8	13	13
	20	0	14	14	16	22	30	30
	21	0	6	13	23	31	41	41
	22	0	4	16	28	44	46	46
	23	0	2	17	32	46	49	49
	24	0	5	15	30	40	45	45
	25	0	14	19	31	43	52	52
	26	0	13	25	31	44	53	53
	27	0	0	4	9	21	36	36
	28	0	5	22	56	67	79	79
	29	0	5	13	33	50	60	60
	30	0	8	16	28	40	40	40
Mittelwert	0	4.8	8.6	16.23	29.5	40.3	48.5	49.4
Standardabweichung $\pm$	0	6.35	7.3	8.0	12.8	16.1	19.1	19.1
SEM $\pm$ (Standard error of the mean)	0	1.2	1.3	1.5	2.3	2.9	3.5	3.5

Isometrische Kontraktion - Kontrollgruppe (n=29) / Kraftanstiegsgeschwindigkeit [g/s] / [mN/s]

Dobutamin- Konzentration [g/l]	0	3 x 10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	3 x 10 ⁻⁴	10 ⁻³	3 x 10 ⁻³	10 ⁻²	3 x 10 ⁻²
Versuch								
1	2.16	2.22	2.28	2.76	3.48	4.08	4.20	4.50
2	2.16	2.28	2.52	3.30	3.90	4.32	4.92	4.92
3	3.60	4.00	4.80	6.40	7.60	8.80	9.20	9.20
4	3.60	4.60	4.80	5.20	6.12	7.80	9.40	9.60
5	2.30	2.60	2.60	3.00	3.80	5.00	5.60	5.60
6	5.20	6.00	6.60	7.20	7.60	8.60	9.60	9.60
7	4.00	4.20	4.80	5.40	6.60	7.40	8.20	8.20
8	2.80	2.80	2.80	3.10	4.20	5.00	6.00	7.20
9	4.60	4.60	5.00	6.00	6.80	8.00	9.20	10.00
10	1.92	2.08	2.40	2.88	3.60	4.20	4.68	4.80
11	3.20	3.40	4.08	4.80	6.40	7.20	8.00	8.00
12	2.80	3.00	3.40	4.20	5.20	6.60	7.20	8.00
13	1.74	1.92	2.22	2.70	3.12	3.60	3.84	3.84
14	3.60	3.70	4.10	4.70	5.60	6.40	7.20	7.20
15	1.44	1.56	1.74	1.98	2.40	2.70	2.94	3.00
16	3.80	4.00	4.30	4.80	5.80	6.50	7.00	7.00
17	4.80	5.00	5.20	6.00	6.80	7.60	8.40	8.40
18	4.80	4.80	5.20	6.00	7.60	9.20	10.00	10.00
19	2.40	2.60	3.10	3.70	4.40	5.00	5.60	5.60
20	7.40	7.80	8.40	9.00	9.60	9.80	10.00	10.00
21	5.20	5.40	5.80	6.60	7.80	8.20	8.40	8.40
22	1.68	1.74	1.98	2.64	3.72	4.80	5.40	5.40
23	1.80	1.80	2.04	2.40	3.24	4.20	4.80	5.04
24	4.00	4.40	5.20	6.40	7.60	8.20	8.40	8.40
25	2.04	2.16	2.46	3.00	3.72	4.50	5.40	5.40
26	2.80	3.20	3.70	4.30	5.00	5.60	6.20	6.20
27	4.40	4.48	4.92	5.60	6.40	7.00	7.44	7.60
28	3.60	3.60	3.60	3.80	4.40	5.20	6.00	6.00
29	2.26	3.50	4.00	4.60	5.20	5.60	5.90	5.90
Mittelwert [g/s] [mN/s]	3.35 32.86	3.57 32.02	3.93 38.55	4.57 44.83	5.44 53.37	6.24 61.21	6.87 67.39	7.00 68.67
Standardabweichung ±	1.37	1.45	1.56	1.70	1.80	1.88	1.98	2.00
SEM ± (Standard error of the mean)	0.25	0.27	0.29	0.32	0.33	0.35	0.37	0.37

Dobutamin-Konzentration [g/l]		0	3 x 10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	3 x 10 ⁻⁴	10 ⁻³	3 x 10 ⁻³	10 ⁻²	3 x 10 ⁻²
Versuch	1	0	4	6	28	61	89	94	108
	2	0	6	17	53	81	100	128	128
	3	0	11	33	78	111	144	156	156
	4	0	28	33	44	70	117	161	167
	5	0	13	13	30	65	117	143	143
	6	0	15	27	38	46	65	85	85
	7	0	5	20	35	65	85	105	105
	8	0	0	0	11	50	79	114	157
	9	0	0	9	30	48	74	117	174
	10	0	8	25	50	88	119	144	150
	11	0	6	28	50	100	125	150	150
	12	0	7	21	50	86	136	157	186
	13	0	10	28	55	79	107	121	121
	14	0	3	14	31	56	78	100	108
	15	0	8	21	38	67	88	104	108
	16	0	5	13	26	53	71	84	84
	17	0	4	8	25	42	58	75	75
	18	0	0	8	25	58	92	108	108
	19	0	8	29	54	83	108	133	133
	20	0	5	14	22	30	32	35	35
	21	0	4	12	27	50	58	62	62
	22	0	4	18	57	121	186	221	221
	23	0	0	13	33	80	133	167	180
	24	0	10	30	60	90	105	110	110
	25	0	6	21	47	82	121	165	165
	26	0	14	32	54	79	100	121	121
	27	0	2	12	27	45	59	69	73
	28	0	0	0	6	22	44	67	67
	29	0	7	23	41	60	72	81	81

Mittelwert	0	6.66	18.21	38.79	67.86	95.24	115.86	120.55
Standardabweichung + ₋	0	5.86	9.54	15.87	22.97	33.37	40.01	42.45

SEM + ₋	0	1.09	1.77	2.95	4.27	6.20	7.43	7.88
(Standard error of the mean)								

Isometrische Kontraktion - Viruskollektiv (n=30) / Kraftanstiegsgeschwindigkeit [g/s] / [mN/s]

Dobutamin-Konzentration [g/l]	0	3 x 10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	3 x 10 ⁻⁴	10 ⁻³	3 x 10 ⁻³	10 ⁻²	3 x 10 ⁻²
Versuch								
1	1.80	1.80	2.00	2.30	2.80	3.00	3.20	3.20
2	1.90	2.10	2.30	2.45	2.80	3.20	3.70	3.70
3	4.40	4.80	5.00	5.40	6.20	6.60	6.80	6.80
4	3.60	3.80	4.00	4.40	5.20	5.70	5.80	5.80
5	4.20	4.20	4.50	4.80	5.40	5.70	6.30	6.30
6	3.90	3.90	4.10	4.40	5.00	5.20	5.40	5.60
7	1.30	1.30	1.80	1.50	1.80	2.05	2.35	2.40
8	3.60	3.70	3.80	4.20	4.80	5.40	6.00	6.10
9	2.02	2.10	2.34	2.58	3.12	3.48	3.78	3.90
10	2.30	2.30	2.44	3.10	3.60	3.60	3.60	3.80
11	2.90	3.00	3.20	3.60	4.00	4.30	4.60	4.60
12	2.46	2.76	2.88	2.94	3.18	3.30	3.48	3.60
13	5.20	5.40	5.60	5.60	6.00	6.40	6.60	6.80
14	3.80	3.90	4.30	4.80	5.40	6.10	6.50	6.50
15	4.80	4.80	4.80	5.00	5.20	5.60	6.20	6.20
16	4.80	6.40	6.80	6.80	7.20	7.60	8.00	8.00
17	4.10	4.20	4.20	4.30	4.50	4.70	4.80	4.90
18	3.84	3.96	4.44	4.95	5.70	6.00	6.30	6.36
19	5.48	5.60	5.60	5.92	6.00	6.20	6.40	6.40
20	4.80	5.40	5.40	5.40	5.60	6.00	6.40	6.40
21	3.84	4.00	4.04	4.30	4.76	5.20	5.60	5.60
22	4.35	4.80	5.10	5.55	6.30	6.90	7.35	7.50
23	4.80	5.00	5.40	6.00	6.80	7.28	7.80	7.80
24	4.80	5.00	5.40	6.00	6.80	7.60	8.00	8.00
25	4.80	5.60	5.60	6.00	6.60	7.40	8.00	8.00
26	2.52	3.00	3.09	3.30	3.54	3.90	4.20	4.20
27	3.50	3.50	3.50	3.60	4.00	4.50	5.00	5.00
28	1.44	1.56	1.56	1.86	2.34	2.64	2.82	2.82
29	4.30	4.40	4.50	5.10	6.00	6.80	7.20	7.20
30	3.50	3.60	3.80	4.10	4.60	5.00	5.20	5.20
Mittelwert [g/s] [mN/s]	3.63 35.61	3.86 37.87	4.03 39.53	4.32 42.38	4.82 47.28	5.24 51.40	5.58 54.74	5.62 55.13
Standardabweichung ±	1.18	1.32	1.36	1.40	1.47	1.56	1.63	1.62
SEM ± (Standard error of the mean)	0.25	0.24	0.25	0.26	0.27	0.29	0.30	0.30

Dobutamin-Konzentration [g/l]	0	3×10^{-5}	10^{-4}	3×10^{-4}	10^{-3}	3×10^{-3}	10^{-2}	3×10^{-2}
Versuch	1	0	0	28	56	67	78	78
	2	11	21	29	47	68	95	95
	3	9	14	23	41	50	55	55
	4	6	11	22	44	50	61	61
	5	0	7	14	29	36	50	50
	6	0	0	13	28	33	38	44
	7	0	0	15	38	58	81	85
	8	3	6	17	33	50	67	69
	9	4	16	28	55	73	88	93
	10	0	0	6	35	57	57	65
	11	3	10	24	38	48	59	59
	12	12	17	20	29	34	41	46
	13	4	8	20	15	23	27	31
	14	3	13	26	42	61	71	71
	15	0	0	4	8	17	29	29
	16	33	42	42	50	58	67	67
	17	2	2	5	10	15	17	20
	18	3	16	29	48	56	64	66
	19	2	2	8	9	13	17	17
	20	13	13	13	17	25	33	33
	21	4	5	12	24	35	46	46
	22	10	17	28	45	58	69	72
	23	13	13	25	42	52	63	63
	24	4	13	25	42	58	67	67
	25	17	17	25	38	54	67	67
	26	19	23	31	40	55	67	67
	27	0	0	3	14	29	43	43
	28	8	8	29	63	83	96	96
	29	2	5	19	40	58	67	67
	30	3	9	17	31	43	49	49
Mittelwert	0	6.27	10.80	19.60	35.03	47.23	57.63	59.03
Standardabweichung $\pm$	0	7.35	8.72	9.60	14.46	17.68	20.75	20.64
SEM $\pm$	0	1.34	1.59	1.75	2.64	3.23	3.79	3.77
(Standard error of the mean)								

6. Literaturverzeichnis

- 1 Abelman, W.H.:
Virus and the heart.
Circulation 154: 950, 1971
- 2 Anschütz, F.:
Klinik und Therapie der Myokarditis.
Therapiewoche 10: 1022, 1974
- 3 Anschütz, F.:
Virus-Myokarditis.
Diagnostik 8: 175, 1975
- 4 Artur Desa'Neto:
Coxsackie B 5 heart disease.
Demonstration of inferolateral wall myocardial necrosis.
Am. J. of Med. 68: 295, 1980
- 5 Ayuthya, P.S.N., Jayavasu, J., Pongpanich, B.:
Coxsackie Group B virus and primary myocardial disease in infants
and children.
Am. Heart J. 88: 311, 1974
- 6 Bandt, C.M., Staley N.A., Noren, G.R.:
Acute viral myocarditis. Clinical and histologic changes.
Minn. Med. 62: 234, 1979
- 7 Barson W.J., Craenen, J.:
Survival following myocarditis and myocardial calcification
associated with infection by Coxsackie Virus B 4.
Pediatrics 68: 1, 1981
- 8 Behebehani, A.M., Sulkin, S.E., Wallis, C.:
Factors influencing susceptibility of mice to Coxsackie virus
infection.
J. Infect. Dis. 110: 147, 1962
- 9 Bell, E.J., Grist N.R.:
Coxsackie virus infections in patients with acute cardiac
disease and chest pain.
Scott. Med. J. 13: 47, 1968
- 10 Bengtsson, E., Örndahl, G.:
Complications of mumps with special reference to the incidence
of myocarditis.
Acta Med. Scand. 149: 381, 1954
- 11 Bengtsson, E.:
Myocarditis and Cardiomyopathie. Clinical aspects.
Cardiologia 52: 97, 1968

- 12 Benett, N.Mck.:
Coxsackie B pericarditis.
Med. J. Aust. 2: 178, 1966
- 13 Bing, H.J.:
Epidemical pericarditis.
Acta Med. Scand. 80: 29, 1933
- 14 Bodian, D., Horstmann, D.M.:
Polioviruses.
in: Viral and Rickettsial Infections of Man.
4th ed.: 430, Lippincott, Philadelphia 1968
- 15 Bolte, H.-D.:
Die rheumatische Karditis.
Internist 16: 501, 1975
- 16 Bolte, H.-D., Schultheiß, P.:
Immunological results in myocardial diseases.
Postgrad. Med. J. 54: 500, 1978
- 17 Bolte, H.-D., Schultheiß, P., Cyran, J., Goss, F.:
Binding of immunoglobulins in the myocardium (biopsies) of
patients with cardiomyopathies.
Bolte, H.-D. ed.: Myocardial biopsy diagnostic significance.
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1980
- 18 Bolte, H.-D., Ludwig, B., Fischer, S.:
Immunologische Symptome bei primär myokardialen Herz-
erkrankungen - speziell bei Myokarditis.
Just, Schuster ed: Myokarditis - Kardiomyopathie.
Symposion Mainz, Nov. 1981
- 19 Bolte, H.-D., Fischer, S., Ludwig, B.:
Immunologische Untersuchungsbefunde bei dilativen
Kardiomyopathien.
Ztschr. f. Kardiol. 71: 517, 1982
- 20 Brown, G.C.:
Fluorescent antibody techniques of the diagnosis of
enteric infections.
Arch. Ges. Virusforsch. 13: 30, 1963
- 21 Brown, G.C., Evans, T.N.:
Serologic evidence of Coxsackie virus etiology of congenital
heart disease.
JAMA 199,3: 183, 1967
- 22 Brown, G.C., Arbor, A.:
Coxsackie virus infections and heart disease.
Am. Heart J. 75,2: 145, 1968
- 23 Buckley, S.M.:
Visualization of poliomyelitis virus by fluorescent antibody.
Arch. Ges. Virusforsch. 6: 388, 1956

- 24 Burch, G.E., De Pasquale, N.P., Sun, S.C., Mogabgab, W.J.,
Hale, A.R.:
Endocarditis in mice infected with Cocksackie virus B 4.
Science 151: 447, 1966
- 25 Burch, G.E., De Pasquale, N.P., Sun, S.C., Hale, A.R.,
Mogabgab, W.J.:
Experimental Cocksackie virus endocarditis.
JAMA 196,4: 137, 1966
- 26 Burch, G.E., Sun, S.C., Colcolough, H.L., Sohal, R.S.,
De Pasquale, N.P.:
Cocksackie B viral myocarditis and valvulitis identified in
routine autopsy specimens by immunofluorescent techniques.
Am. Heart J. 74,1: 1967
- 27 Burch, G.E., Sun, S.C., Chu, K.C., Sohal, R.S.,
Colcolough, H.L.:
Interstitial and Cocksackie virus B myocarditis in infants
and children.
JAMA 203: 55, 1968
- 28 Burch, G.E., Colcolough, H.L.:
Progressive Cocksackie viral pancarditis and nephritis.
Ann. Int. Med. 71: 963, 1969
- 29 Burch, G.E., Giles, Th.D.:
The role of viruses in the production of heart disease.
Am. J. Cardiol. 29: 231, 1972
- 30 Cerottini, J.D., Brunner K.T.:
Cell-mediated cytotoxicity, allograft rejection and tumor
immunity.
Adv. Immunol 18: 67, 1974
- 31 Christian, H.A.:
Nearly ten decades of interest in idiopathic pericarditis
Am. Heart J. 42: 645, 1951
- 32 Committee on the Echo viruses:
Enteric cytopathogenic human orphan (ECHO) viruses.
Science 122: 1187, 1955
- 33 Committe on the Enteroviruses, National Foundation of
Infantile Paralysis:
The Enteroviruses.
A. J. Public Health 47: 1556, 1957
- 34 Contreras, G., Barnett, V.H., Melnick, J.L.:
Identification of Cocksackie viruses by immunological
methods and their classification in 16 antigenically distinct
types.
J. Immunol. 69: 395, 1952

- 35 Coons, A.A., Kaplan, M.M.:
Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody.
J. exp. Med. 91: 1, 1950
- 36 Coxsackie B 5 virus infection during 1965.
A report to the director of the public health laboratory service from various laboratories in the United Kingdom.
Brit. Med. J. 4: 575, 1967
- 37 Crowell, R.L.:
Comparative generic characteristics of Picorna-virus-receptor interactions, cell membrane receptors for viruses, antigens and antibodies, polypeptide hormones and small molecules.
Beers, R.F. jun., Bassett, E.G. ed.: New York, Raven Press, 179, 1976
- 38 Dalldorf, G., Sickles, G.M.:
An unidentified, filtrable agent isolated from the feces of children with paralysis.
Science 108: 61, 1948
- 39 Dalldorf, G., Sickles, G.M., Plager, H., Gifford, R.:
A virus recovered from the feces of "poliomyelitis" patients pathogenic for suckling mice.
J. Exp. Med. 89: 567, 1949
- 40 Dalldorf, G., Melnick, J.L.:
Coxsackie viruses.
Viral and Rickettsial Infections of Man. 4th ed.: 474, Lippincott, Philadelphia 1965
- 41 De Pasquale, N.P., Burch, G.E., Sun, S.C., Hale, A.R., Mogabgab, W.J.:
Experimental Coxsackie virus B 4 valvulitis in cynomolgus monkeys.
Am. Heart J. 71: 678, 1966
- 42 Doerr, W.:
Morphologie der Myokarditis.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 77: 301, 1971
- 43 Doherty P.C., Blanden, R.V., Zinkernagel, R.M.:
Specificity of virus-immune effector T cells for H-2k and H-2D compatible interactions: Implication for H-antigen diversity.
Transplant. Rev. 29: 89, 1976
- 44 Dressler, W.A.:
A postmyocardial infarction syndrome.
J. Amer. med. Ass. 160: 1379, 1956

- 45 Dyachenko, N.S., Nosach, L.N., Gushcha, K.P., Vantsak, N.P.:
Dynamics of accumulation of capsid proteins of type 1 adenovirus (immunofluorescence and cytofluorometric data).
Acta virol. 17: 116, 1973
- 46 East, J., Prosser, P.R., Holborow, E.J., Jaquet, H.:
Autoimmune reactions and virus-like particles in Germ-free NZB mice.
Lancet 8: 755, 1967
- 47 Eckstein, R., Mempel, W., Bolte, H.-D.:
Reduced suppressor cell activity in Congestive Cardiomyopathy and in myocarditis.
Circulation 65: 1224, 1982
- 48 Evans, R., Alexander, P.:
Mechanisms of immunologically specific killing of tumor cells by macrophages.
Nature 236: 168, 1972
- 49 Feinstone, S.M., Hensley, G.T., Rytel, M.W.:
Post Cocksackievirus B 3 myocardial pathology in mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 144: 345, 1973
- 50 Fenner, F., McAnslan, B.R., Minis, C.A., Sambrook, J., White, D.O.:
Biology of animal viruses.
Academic Press, New York 1974
- 51 Fenoglio, J.J.
Diagnosis and classification of myocarditis by endomyocardial biopsy.
N. Engl. J. Med. 308: 12, 1983
- 52 Finn, J.J., Weller, Th., Morgan, H.R.:
Epidemic pleurodynia: Clinical and etiologic studies based on one hundred and fourteen cases.
Arch. Intern. Med. 83: 305, 1949
- 53 Fish, M., Barton, H.R.:
Heart involvement in infectious mononucleosis.
Arch. Intern. Med. 101: 636, 1958
- 54 Fletcher, E., Brennan, C.F.:
Cardiac complications of Cocksackie virus infections.
Lancet I: 913, 1957
- 55 Fletcher, E., Brennan, C.F.:
Cardiac complications of Cocksackievirus infections.
Lancet II: 585, 1958
- 56 Fletcher, G.F., Coleman, M.T., Feorino, P.M., Marine, W.M., Wenger, N.K.:
Viral antibodies in patients with primary myocardial disease.
Am. J. Cardiol. 21: 6, 1968

- 57 Frederici, E.E., Lerner, A.M., Abelman, W.H.:
Observations on the course of Coxsackie A 9 myocarditis
in C3H Mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112: 672, 1963
- 58 Gatmaintan, B.G., Chason, J.L., Lerner, A.M.:
Augmentation of the virulence of murine Coxsackie B 3
cardiomyopathy by exercise.
J. Exp. Med. 131: 1132, 1970
- 59 Gear, J.M.S., Measroch, V.:
Coxsackie virus infections of the newborn.
Prog. Med. Virol. 15: 42, 1973
- 60 Gerzen, P., Granath, A., Holmgren, B., Zetterquist, S.:
Acute myocarditis: A follow-up study.
Brit. Heart J. 34: 575, 1972
- 61 Godmann, G.C., Bunting, H., Melnick, J.L.:
The histopathology of Coxsackie virus infection in mice:
I. Morphologic observations with four different viral types.
Am. J. Path. 28: 223, 1952
- 61a Godmann, G.C.:
The cytopathology of enteroviral infection.
Int. Rev. Exp. Pathol. 5: 67, 1966
- 62 Goodwin, J.F.:
Prospects and predictions for the cardiomyopathies.
Circulation 50: 210, 1974
- 63 Gore, J., Saphir, O.:
Myocarditis: A classification of 1402 cases.
Am. Heart J. 34: 827, 1947
- 64 Green, Earl L.:
Biology of the laboratory mouse.
2nd ed: Dover Publications, Inc. New York
- 65 Grist, N.R., Bell, E.J.:
Coxsackie viruses and the heart.
Am. Heart J. 77: 295, 1969
- 66 Grist, N.R., Bell, E.J.:
A six-year study of Coxsackie virus B infections in heart disease.
J. Hyg. 73: 165, 1974
- 67 Grodums, E.J., Dempster, G.:
The age factor in experimental Coxsackie B 3 infection.
Can. J. Microbiol. 5: 595, 1959
- 68 Grodums, E.J., Dempster, G.:
Myocarditis in experimental Coxsackie B 3 infection.
Can. J. Microbiol. 5: 605-615, 1959

- 69 Grodums, E.J., Dempster, G.:
The pathogenesis of Coxsackie group B viruses in
experimental infection.
Can. J. Microbiol. 8: 105, 1962
- 70 Harmjan, Z.D.:
Myokarditis - Kardiomyopathie: Überlegungen zur Differential-
diagnose mit Hilfe der Myokardbiopsie.
Therapiewoche 10: 1051, 1974
- 70a Hassan, S., Rabin, E.R., Melnick, J.L.:
Reovirus myocarditis in mice: An electron microscopic, immuno-
fluorescent and virus assay study.
Exp. Mol. Pathol. 4: 66, 1965
- 71 Heinecker, R.:
Über die Häufigkeit kardialer Beteiligung bei Influenzainfektion.
Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 65: 788, 1959
- 72 Helin, M., Savola, J., Lapinleimu, K.:
Cardiac manifestations during a Coxsackie B 5 epidemic.
Brit. med. J. 3: 97, 1968
- 73 Helwig, F.C., Schmidt, E.C.H.:
A filter passing agent producing interstitial myocarditis in
anthropoid apes and small animals.
Science 102: 31, 1945
- 74 Hibbs, R.G., Ferrans, V.J., Black, W.C., Walsh, J.J., Burch, G.E.:
Virus-like particles in the heart of a patient with cardiomyopathy.
Am. Heart J. 69: 327, 1965
- 75 Hill, A.V.:
The heat of shortening and the dynamic constants of muscle.
Proc. Roy. Soc. (Biol.) Ser. B. 126: 136, 1938
- 76 Hill, A.V.:
Variation of total heat production in a twitch with velocity
of shortening.
Proc. Roy. Soc. (Biol.) 159: 596, 1964
- 77 Hirschmann, S.Z., Hammer, G.S.:
Coxsackie virus myopericarditis: A microbiological and
clinical review.
Amer. J. Cardiol. 34: 224, 1974
- 77a Hoskins J.M.:
Virological procedures.
Butterworths, London 1967
- 78 Huber, S.A., Job, L.P.:
Cellular immune mechanisms in Coxsackie virus group B, type 3
induced myocarditis in Balb/c mice.
Adv. Exp. Med. Biol. 161: 491, 1983

- 79 Huber, S.A., Job, L.P.:
Differences in cytolytic T cell response of Balb/c mice infected with myocarditic and non-myocarditic strains of Cocksackie virus group B, type 3.
Infect. Immun. 39: 1419, 1983
- 80 Just, H., Schölmerich, P.:
Klinik der Virusmyokarditis.
Ärztl. Prax. 22: 119, 1970
- 81 Kaplan, M.H.:
Autoantibodies to heart and rheumatic fever: The induction of autoimmunity to heart by streptococcal antigen cross-reactiv with heart.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 124: 903, 1965
- 82 Kawai, Ch., Takatsu, T.:
Clinical and experimental studies on cardiomyopathy.
N. Engl. J. Med. 12: 592, 1975
- 83 Kibrick, S., Benirschke, K.:
Acute aseptic myocarditis an meningoencephalitis in the newborn child infected with Cocksackie virus group B, type 3.
N. Engl. J. Med. 255: 883, 1956
- 84 Kilbourne, E.D.:
Diverse manifestations of infection with a strain of Cocksackie virus.
Fed. Proc. 9: 581, 1950
- 85 Kilbourne, E.D., Horsfall F.L.:
Lethal infection with Cocksackie virus of adult mice given cortisone.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77: 135, 1951
- 86 Kilbourne, E.D., Wilson, Ch.B., Perrier, D.:
The induction of gross myocardial lesions by a Cocksackie (Pleurodynia) virus and cortisone.
J. Clin. Invest. 35: 362, 1956
- 87 Knieriem, H.J.:
Zur Differentialdiagnose zwischen Myokarditis und idiopathischer Kardiomyopathie aus pathologisch-anatomischer Sicht.
Therapiewoche 10: 1054, 1974
- 88 Koontz, C.H., Ray, C.G.:
The role of Cocksackie group B virus infections in sporadic myopericarditis.
Am. Heart J. 82: 750, 1971
- 89 Kron, J., Buchholz, M., Schulz, R., Quintenz, M., Wigand, R.:
Laboratoriumspraxis bei Adenoviren.
I. Qualitative und quantitative Immunfluoreszenz.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 229: 159, 1974

- 89a Kundin, W.D., Chien, L., Gigstad, J.:
Reovirus infection in suckling mice: Immunofluorescent and infectivity studies.
J. Immunol. 97:3: 393, 1966
- 90 Kunkel, B., Kober, G., Lapp, H., Leuschner, V., Kaltenbach, M.:
Klinische, licht- und elektronenmikroskopische Befunde bei frühen und fortgeschrittenen Formen Kongestiver Kardiomyopathie.
Z. Kardiol. 66: 198, 1977
- 90a Kurstak, E., Morisset, R.:
Viral immunodiagnosis.
Academic Press, New York 1974
- 91 Landau, B.J.:
Replication of Cocksackievirus B 3 in primary mouse cell cultures of cardiac origin.
ASM Annual Meeting: 233, 1978
- 92 Landsteiner, K., Popper, E.:
Übertragung der Poliomyelitis acuta auf Affen.
Z. Immunitätsforsch., Orig. 2: 377, 1909
- 92a Lennette, E.H., Spaulding, E.H., Traunt, J.P.:
Manual of clinical microbiology.
2nd ed: American Society for Microbiology, Washington DC, 1974
- 93 Lerner, A.M., Shaka, J.A.:
Cocksackie A 9 myocarditis in adult mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111: 804, 1963
- 94 Lerner, A.M., Levin, H.S., Finland, M.:
Age and susceptibility of mice to Cocksackie A viruses.
J. Exp. Med. 115: 745,
- 95 Lerner, A.M.:
An experimental approach to virus myocarditis.
Progr. Med. Virol. 7: 97, 1965
- 96 Lerner, A.M.:
Virus myopericarditis.
Ann. of Internal. Med. 69: 1068; 1968
- 97 Lerner, A.M.:
Cocksackie virus myocardopathy.
J. Infect. Dis. 120: 496, 1969
- 98 Lerner, A.M., Wilson, F.M.:
Virus myocardopathy.
Progr. Med. Virol. 15: 63, 1973
- 99 Lim, K.A., Benyesh-Melnick, M.:
Typing of viruses by combinations of antiserum pools.
Application to typing of enteroviruses (Cocksackie and ECHO)
J. Immunol. 84: 309, 1960

- 100 Locke, E.A., Farusworth, D.L.:
The clinical characteristics of epidemic pleurodynia.
Trans. Assoc. Am. Physicians 51: 399, 1936
- 101 Longson, M., Cole, F.M., Davies, D.:
Isolation of a Coxsackie virus group B, type 5, from the heart of a
fatal case of myocarditis in an adult.
J. Clin. Path. 22: 654, 1969
- 102 Lou, T.Y., Wenner, H.A., Kamitsuka, P.S.:
Experimental infections with Coxsackie viruses.
II. Myocarditis in cynomolgus monkeys infected with B 4 virus.
Arch. Ges. Virusforsch. 10: 451, 1961
- 103 Luria, S.E., Darnell, J.E. jr., Baltimore, D., Campbell, A.:
General virology.
3rd. ed, John Wiley and sons, New York 1978
- 104 Maisch, B., Berg, P.A., Kochsiek, K.:
Autoantibodies and serum inhibition factors (SIF) in patients
with myocarditis.
Klin. Wochenschr. 58: 219, 1980
- 105 Maisch, B.:
Diagnostic relevance of humoral and cell-mediated immune reactions
in patients with acute viral myocarditis.
Clin. exp. Immunol. 48: 533, 1982
- 106 Mason, J.W., Billingham, M.E., Ricci, D.R.:
Treatment of acute inflammatory myocarditis assisted by
endomyocardial biopsy.
Am. J. Cardiol. 45: 1037, 1980
- 107 Matsumon, A., Kawai, Ch.:
Coxsackie virus B 3 perimyocarditis in Balb/c mice.
Experimental model of chronic perimyocarditis in the right
ventricle.
J. Pathol. 131: 97, 1980
- 108 Matsumori, A., Kawai, Ch.:
An experimental model for congestive heart failure after
encephalomyocarditis virus myocarditis in mice.
Circulation 65: 1230, 1982
- 108a Matsumori, A., Kawai, Ch.:
An animal model of congestive (dilated) cardiomyopathy:
Dilatation and hypertrophy of the heart in the chronic stage in
DBA/2 mice with myocarditis caused by encephalomyocarditis virus.
Circulation 66: 355, 1982
- 109 Mattingly, Th.W.:
Changing concepts of myocardial diseases.
JAMA 191: 127, 1965

- 110 May, G.:
Virusätiologie der Myokarditis.
Diagnostik 8: 182, 1975
- 111 Mayr, A., Bachmann, P.A., Bibrack, B., Wittmann, G.:
Virologische Arbeitsmethoden.
Band II, 535, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1977
- 112 Melnick, J.L.:
Enteroviruses.
Evans, A.S. ed.: Viral infections of humans. Epidemiology
and control. Plenum Medical Book Company, New York and London.
- 113 Melnick, J.L., Shaw, E.W., Curnen, E.C.:
A virus from patients diagnosed as non-paralytic poliomyelitis
or aseptic meningitis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 71: 344, 1949
- 114 Melnick, J.L., Ledinko, N.:
Infection of cynomolgus monkeys with the Ohio type of
Coxsackie virus (C-virus).
J. Immunol 64: 101, 1950
- 115 Melnick, J.L., Godman, G.C.:
Pathogenesis of Coxsackie virus infection. Multiplication of
virus and evolution of the muscle lesion in mice.
J. Exp. Med. 93: 247, 1951
- 116 Melnick, J.L., Kaplan, A.S.:
Quantitative studies on the virus-host relationship in chimpanzees
after inapparent infection with Coxsackie viruses.
I. The virus carrier state and the development of neutralizing
antibodies.
J. Exp. Med. 97: 367, 1952
- 117 Melnick, J.L.:
Advances in the study of the enteroviruses.
Prog. Med. Virol. 1: 59, 1958
- 118 Melnick, J.L., Dalldorf, G., Gard, S., Gear, J.H.S., et al.:
Picornavirus group: Enteroviruses and Rhinoviruses.
Virology 19: 114, 1963
- 119 Melnick, J.L.:
ECHO viruses.
Viral and Rickettsial infections of man. 4th ed.: 513,
Lippincott Philadelphia 1965
- 120 Melnick, J.L.:
Enteroviruses: Vaccines, epidemiology, diagnosis and
classification.
Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 1: 87, 1970

- 121 Melnick, J.L. et al.:
Study group on Picornaviridae, Vertebrate Virus Subcommittee.
International Committee on Taxonomy of Viruses.
Intervirology 4: 303, 1974
- 122 Miller, R., Ward, C., Amsterdam, E., Mason, D.T., Zelis, R.:
Focal mononucleosis myocarditis simulating myocardial infarction.
CHEST 63: 102, 1973
- 123 Minkowitz, S., Berkovich, S.:
Hepatitis produced by Coxsackie virus B 1 in adult mice.
Arch. Pathol. 89: 427, 1970
- 124 Monif, G.R.G., Lee, Ch.W., Hsiung, G.D.:
Isolated myocarditis with recovery of ECHO type 9 virus from
the myocardium.
New Engl. J. Med. 277: 1353, 1967
- 124a Morgante, O., Ambrosie, E.P., Haraphongse, M., Lam, R.P.,
Fraser, R.S.:
Conjugation of Coxsackie virus types B 1 - B 6 immunoglobulins
with fluorescein isothiocyanate by a "reversed" dialysis method.
J. Inf. Dis. 137: 802, 1978
- 125 Nagaratnam, N., Siripala, K., de Silva, N.:
Arbo virus (dengue type) as a cause of acute myocarditis and
pericarditis.
Br. Heart J. 35: 204, 1973
- 126 Norris, D., Loh, P.C.:
Coxsackie virus myocarditis: Prophylaxis and therapy with an
interferon stimulator.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 142: 133, 1973
- 127 Okuni, M., Yamada, T., Mochizuki, S., Sakurai, J.:
Studies on myocarditis in childhood with special reference to
the possible role of immunological process and the thymus in
the chronicity of the disease.
Jpn. Circ. J. 39: 463, 1975
- 128 Oldstone, M.B.A.:
Virus neutralization and virus-induced immune complex disease.
Prog. Med. Virol. 19: 84, 1975
- 129 Olsen, E.G.J.:
The pathology of the heart.
Georg Thieme Publishers, Stuttgart 1974
- 130 Pappenheimer, A.M., Kunz, L.J., Richardson, S.:
Passage of Coxsackie virus (Connecticut-5-strain) in adult mice
with production of pancreatic disease.
J. Exp. Med. 94: 45, 1951
- 131 Pearce, J.M.:
Heart disease and filtrable viruses.
Circulation 21: 448, 1960

- 132 Perlmann, P., Holm, G.:
Cytotoxic effects of lymphoid cells in vitro.
Adv. Immunol. 11: 117, 1969
- 133 Plager, H., Beebe, R., Miller, J.K.:
Coxsackie B 5 pericarditis in pregnancy.
Arch. Intern. Med. 110: 735, 1962
- 134 Rabin, E.R., Shawky, A.H., Jenson, A.B., Melnick, J.L.:
Coxsackie virus B 3 Myocarditis in mice.
An electron microscopic, immunofluorescent and virus-assay study.
Am. J. Path. 44: 775, 1964
- 135 Rager-Zisman, B., Allison, A.C.:
The role of antibody and host cells in the resistance of mice
against infection by Coxsackie B 3 virus.
J. Gen. Virol. 19: 329, 1973
- 136 Rager-Zisman, B., Allison, A.C.:
Effects of immunosuppression on Coxsackie B 3 virus infection
in mice and passive protection by circulating antibody.
J. Gen. Virol. 19: 339, 1973
- 137 Rhim, J.S., Jordan, L.E., Mayor, H.D.:
Cytochemical, fluorescent-antibody and electron microscopic studies
on the growth of Reovirus (Echo 10) in tissue culture.
Virology 17: 342, 1962
- 138 Riggs, J.L., Brown, G.C.:
Application of direct and indirect immunofluorescence for
identification of Enteroviruses and titrating their antibodies.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 110: 833, 1962
- 138a Roesing, T.G., Landan, B.J., Crowell, R.L.:
Limited persistence of viral antigen in Coxsackie B 3 induced
heart disease in mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 160: 382, 1979
- 139 Rose, H.D.:
Recurrent illness following acute Coxsackie B 4 myocarditis.
Am. J. Med. 54: 544, 1973
- 140 Rytel, M.W., Kilbourne, E.D.:
Differing susceptibility of adolescent and adult mice to
non-lethal infection with Coxsackie virus B 3.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 137: 443, 1971
- 141 Sack, W., Sebening, H., Wachsmuth, E.D.:
Auto-Antikörper gegen Herzmuskelsarkolemm im Serum von Patienten
mit primärer Kardiomyopathie.
Klin. Wschr. 53: 103, 1975
- 142 Sainani, G.S., Krompotic, E., Slodki, S.J.:
Adult heart disease due to the Coxsackie virus B infection.
Medicine 47: 133, 1968

- 143 Sakamoto, M., Suzuki, F., Arai, S., Takishima, T., Ishida, N.:
Experimental myocarditis induced in mice by infection with
Influenza A 2 virus.
Microbiol. Immunol. 25: 173, 1981
- 144 Sanders, V., Favour, C.B.:
Myocarditis: Infections and immunologic aspects.
M. Ann. District of Columbia 31: 310, 1962
- 145 Sanders, V., Washington, D.C.:
Fundamentals of clinical cardiology: Viral myocarditis.
Am. Heart J. 66: 707, 1963
- 146 Schmidt, N.J., Edward, C.H.:
Virus myocarditis: Pathology and experimental studies.
Am. J. Path. 24: 97, 1948
- 147 Schmidt, N.J., Guenther, R.W., Lennette, E.H.:
Typing of ECHO virus isolates by immune serum pools.
J. Immunol. 87: 623, 1961
- 148 Schmidt, N.J., Dennis, J.; Lennette, E.H.:
Antibody responses of Rhesus (Macaca Mulatta) monkeys
experimentally infected with Coxsackie viruses of group B and
group A type 9.
II. Heterotypic antibody responses to ECHO viruses, Polioviruses
and Reovirus type 1.
J. Immunol. 98: 1060, 1967
- 148a Schmidt, N.J., Lennette, E.H., Dennis, J.:
Characterization of antibodies produced in natural and experimental
Coxsackie virus infections.
J. Immunol. 100: 99, 1968
- 149 Schölmerich, P.:
Diagnostik und Verlauf der Virusmyokarditis.
Internist 16: 508, 1975
- 150 Schümman, H.J., Endoh, M., Wagner, J.:
Positive inotropic effects of Phenylephrine in the isolated rabbit
papillary muscle mediated both by alpha- and beta-Adrenoceptors.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 284: 133, 1974
- 151 Seibel, K., Reiter, M.:
Differentiation of inotropic mechanisms by experiments on
cardiac contracture.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 268: 65, 1974
- 152 Shaw, E.D., Newton, A., Powell, A.W., Friday, Ch.J.:
Fluorescent antigen-antibody reactions in Coxsackie, ECHO,
Enteroviruses.
Virology 15: 208, 1961
- 153 Silber, E.N.:
Respiratory viruses and heart disease.
Ann. Int. Med. 48: 228, 1958

- 154 Smith, W.G.:
Adult heart disease due to the Cocksackie virus group B.
Br. Heart J. 28: 204, 1966
- 155 Smith, W.G.:
Cocksackie heart disease in adults.
Am. Heart. J. 73: 439, 1967
- 156 Smith, W.G.:
Cocksackie B myocarditis in adults.
Am. Heart J. 80: 34, 1970
- 157 Sohal, R.S., Burch, G.E.:
Ultrastructural lesions of the myocardial cell in Cocksackie B 4
Virus infected mice.
Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. 346: 361, 1969
- 158 Sommerville, R.G.:
Rapid diagnosis of viral infections by immunofluorescent staining
of viral antigens in leucocytes and macrophages.
Prog. med. Virol. 10: 398, 1968
- 159 Sonnenblick, E.H.:
Force-velocity relations in mammalian heart muscle.
Am. J. Physiol. 202: 931, 1962
- 160 Sonnenblick, E.H.:
Implications of muscle mechanics in the heart.
Fed. Proc. 21: 975, 1962
- 161 Sonnenblick, E.H.:
Maximum force development in cardiac muscle.
Nature (London) 219: 1056, 1968
- 162 Stevens, P.F., Underwood-Ground, K.E.:
Occurence and significance of myocarditis in trauma.
Aerospace Med. 47: 776, 1970
- 163 Sun, N.,C., Smith, V.M.:
Hepatitis associated with myocarditis.
New Engl. J. Med. 274: 190, 1966
- 164 Sutton, G.C., Harding, H.B., Trueheart, R.P., Clark, H.P.:
Cocksackie B 4 myocarditis in an adult: Successful isolation of virus
from ventricular myocardium.
Aerospace Med. 38: 66, 1967
- 165 Sylvest, E.:
Epidemic myalgia: Bornholm disease.
London, Oxford, 1934
- 166 Takatsu, T., Kawai, Ch., Tsutsumi, J., Inone, K.:
A case of idiopathic myocardiopathy with deposits of a peculiar
substance in the myocardium; diagnosis by endomyocardial biopsy.
Am. Heart J. 76: 93, 1968

- 167 Takatsu, T.:
Idiopathic cardiomyopathy.
Jap. J. Med. 17,2: 157, 1978
- 168 Tebbe, U.:
Alkohol-Kardiomyopathie und Wirkungen von Antiarrhythmika:
Elektrophysiologische Untersuchungen am isolierten Papillarmuskel
des Herzens (Meerschwein, Katze).
Inaugural-Dissertation, Göttingen 1977
- 169 The Lancet
Viruses and heart disease.
Lancet 26: 991, 1974
- 170 Tilles, J.G., Elson, S.H., Shaka, J.A. et al.:
Effects of exercise on Coxsackie A 9 myocarditis in adult mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 116: 117, 1964
- 171 Tobin, J.R., Discoll, J.R., Lim, M.T., Sutton, G.C., Gunnar, R.M.:
Primary myocardial disease in the alcoholic patient.
Circulation 208: 31, 1965
- 172 Van der Geld, H.:
Anti-heart antibodies in the postpericardiotomy and the
postmyocardialinfarction syndromes.
Lancet II: 617, 1964
- 173 Van Nieuwstadt, A.P., van der Veen, J.:
Fluorescent cell-counting assay of Adenovirus in diploid
fibroblastic cells.
Arch. für die gesamte Virusforschung 34: 136, 1971
- 174 Verlinde, J.D., van Tongeren, H.A.E., Kret, A.:
Myocarditis in newborns due to group B Coxsackie virus:
Virus studies.
Ann. Pediat. 187: 113, 1956
- 175 Wedler, H.L.:
Zur Symptomatik der Myokarditis.
Diagnostik 4: 248, 1971
- 176 Wenner, H.A., Lou, T.Y., Kamitsuka, P.S.:
Experimental infections with Coxsackie viruses.
I. Studies on virulence and pathogenesis in cynomolgus monkeys.
Arch. für die gesamte Virusforschung 10: 426, 1960
- 176a Report of the WHO
ISFC task force on the definition and classification of
cardiomyopathies.
Br. Heart J. 44: 672, 1980
- 177 Wilson, F.M., Miranda, Q.R., Chason, J.L., Lerner, A.M.:
Residual pathologic changes following murine Coxsackie A and B
myocarditis.
Bact. Proc. 55,2: 253, 1969

- 178 Wilson, F.M., Hashimi, A., Lerner, A.M.:
Multiplication of Boston Strains of Cocksackie virus A 9 in the adult mouse heart.
J. Bact. 90: 546, 1965
- 179 Wilson, F.M., Miranda, Q.R., Chason, J.L., Lerner, A.M.:
Residual pathologic changes following murine Cocksackie A and B myocarditis.
Am. J. Path. 55: 253, 1969
- 180 Wilson, R.S.E., Morris, T.H., Rees, J.R.:
Cytomegalovirus myocarditis.
Br. Heart J. 34: 865, 1972
- 181 Windorfer, A.:
Die akute Virus-Myokarditis beim Kind.
MMW 44: 2213, 1966
- 181a Wink, K., Brett, W., Hagemann, G., Barmeyer, J., Reindell, H.:
Klinische und hämodynamische Aspekte der Herzmuskelerkrankungen.
MMW 118/23: 759, 1976
- 182 Wong, C.Y., Woodruff, J.J., Woodruff, J.F.:
Generation of cytotoxic T lymphocytes during Cocksackie virus B 3 infection: I. Model and viral specificity.
II. Characterization of effector cells and demonstration of cytotoxicity against viral-infected myofibers.
J. Immunol. 118: 1159, 1977
- 183 Woodruff, J.F., Kilbourne, E.D.:
The influence of quantitated post-weaning undernutrition on Cocksackie B 3 infection of adult mice.
I. Viral persistence and increased severity of lesions.
J. Infect. Dis. 121: 137, 1970
- 184 Woodruff, J.F.:
The influence of quantitated post-weaning undernutrition on Cocksackie B 3 infection of adult mice.
II. Alteration of host defense mechanisms.
J. Infect. Dis. 121: 164, 1970
- 185 Woodruff, J.F., Woodruff, J.J.:
Involvement of T-lymphocytes in the pathogenesis of Cocksackie virus B 3 heart disease.
J. Immunol. 113: 1726, 1974
- 186 Woodruff, J.F.:
Lack of correlation between neutralizing antibody production and suppression of Cocksackie virus B 3 replication in target organs: Evidence for involvement of mononuclear inflammatory cells in host defense.
J. Immunol. 123: 31, 1979
- 187 1975 yearly report, virology and rickettsiology service.
Nassau County Medical Center, East Meadow, New York.

- 188 Zalan, E., Kelen, A.E., Labzoffsky, N.A.:
Immunofluorescence studies on Cocksackie group A viruses.
I. Localization of viral antigen in infected primary human
amnion cells.
Archiv f. Virusforschung: 668, 1965
- 189 Zurcher, C., Brinkhof, J., Bentvelzen, P., de Man, J.C.H.:
C-type virus antigens detected by immunofluorescence in human
bone tumor cultures.
Nature 254: 457, 1975

7. Lebenslauf

Am 4.2.1954 wurde ich als erstes Kind des Journalisten Paul Ludwig und seiner Ehefrau Sigrid, geb. Harrer, in Heidelberg geboren.

In München trat ich nach dem vierjährigen Besuch der Volksschule 1964 in das Naturwissenschaftliche Max-Planck-Gymnasium über und absolvierte 1973 die Reifeprüfung.

Im Wintersemester 1973/74 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Im Oktober 1979 legte ich den dritten Teil der Ärztlichen Prüfung ab und erlangte die Approbation.

Seit dem 1. November 1980 habe ich als Assistent an der Medizinischen Klinik I der Universität München im Klinikum Großhadern (Direktor Prof. Dr. G. Riecker) meine Ausbildung zum Facharzt für Innere Medizin begonnen und war bis Juni 1984 Mitglied der Arbeitsgruppe von Prof. Bolte. Seit Juli arbeite ich im Labor von Herrn Dr. Schultheiß.

Herrn Prof. Dr. med. H.-D. Bolte, jetzt Chefarzt der I. Medizinischen Klinik des Zentralklinikums Augsburg, einem akademischen Lehrkrankenhaus der Ludwig-Maximilians-Universität München,

danke ich für die Überlassung des Themas, die entgegenkommende Unterstützung und zahlreiche fördernde Anregungen und Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit.

Fräulein E. Ronft und Herrn M. Rupff möchte ich an dieser Stelle für ihre freundliche und wertvolle Mitarbeit danken.

